

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**Análise do Teor e da Qualidade dos Lipídeos Presentes em
Sementes de Oleaginosas por RMN de Baixo Campo**

André Fazolo Constantino

Dissertação de Mestrado em Química

**Vitória
2013**

André Fazolo Constantino

**Análise do Teor e da Qualidade dos Lipídeos Presentes em
Sementes de Oleaginosas por RMN de Baixo Campo**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química do Centro de Ciências Exatas da Universidade Federal do Espírito Santo como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Química, na área de Química Orgânica.

Orientador: Prof. Dr. Valdemar Lacerda Jr.

Co-orientador: Prof. Dr. Reginaldo Bezerra dos Santos

**VITÓRIA
2013**

Análise do Teor e da Qualidade dos Lipídeos Presentes em Sementes de Oleaginosas por RMN de Baixo Campo

André Fazolo Constantino

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Espírito Santo como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Química.

Aprovado em 27/02/2013 por:

Prof. Dr. Valdemar Lacerda Jr.
Universidade Federal do Espírito Santo
Orientador

Prof. Dr. Reginaldo Bezerra dos Santos
Universidade Federal do Espírito Santo
Co-orientador

Prof. Dr. Luciano Moraes Lião
Universidade Federal de Goiás

Prof. Dr. Jair Carlos Checon de Freitas
Universidade Federal do Espírito Santo

Universidade Federal do Espírito Santo
Vitória, 27 de fevereiro de 2013

C758a Constantino, André Fazolo, 1989 -
Análise do teor e da qualidade dos lipídeos presentes em
sementes de oleaginosas por RMN de baixo campo / André
Fazolo Constantino. – 2013.
109 f. : il.

Orientador: Valdemar Lacerda Júnior.
Coorientador: Reginaldo Bezerra dos Santos.
Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal
do Espírito Santo, Centro de Ciências Exatas.

1. Sementes oleaginosas. 2. Biodiesel. 3. Espectroscopia de
ressonância magnética nuclear. 4. Ressonância magnética
nuclear. I. Lacerda Júnior, Valdemar. II. Santos, Reginaldo Bezerra
dos. III. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de
Ciências Exatas. IV. Título.

CDU: 54

A Deus e à minha família.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar a Deus que sempre está comigo me abençoando e que me permitiu concluir mais essa etapa da minha vida;

Aos meus pais, Diniz e Marilza, à minha irmã, Aline Fazolo, e à minha namorada, Aline Vidal, que estiveram ao meu lado, incondicionalmente, durante esses dois anos;

Aos professores Drs. Valdemar Lacerda Jr. e Reginaldo Bezerra dos Santos, pela orientação e dedicação durante o desenvolvimento deste trabalho, e pela amizade estabelecida a partir do nosso convívio;

A Giovanna que se disponibilizou para me treinar no equipamento de RMN e que sempre esteve disposta a tirar algumas dúvidas que eu tinha. Nesse sentido eu quero agradecer também ao Renzo;

Ao professor Dr. Tiago Venâncio da UFSCar, que, mesmo à distância, foi quem me auxiliou na compreensão e utilização da sequência de CWFP.

Ao professor Dr. Luiz Alberto Colnago pela atenção e disponibilidade durante o período de análises na Embrapa Instrumentação Agropecuária (São Carlos – SP), e a todos que também me ajudaram por lá: André, Fabiana, Fernanda, Fernando, Gabriela, Joana, Patrícia, Tatiana e Tiago;

Aos professores Drs. Jair Carlos Checon de Freitas e Luciano Moraes Lião por terem aceitado o convite para participarem da banca de avaliação. E, ainda ao Jair, pelas contribuições que deu ao trabalho quando participou de outras avaliações e pelas aulas de “Fundamentos e aplicações da RMN no estado sólido” por ele ministradas;

A todos os professores do DQUI-UFES que de alguma forma contribuíram para minha formação acadêmica. Especialmente aos professores Drs. Álvaro Cunha Neto, Eustáquio Vinícius Ribeiro de Castro e Sandro José Greco, que foram responsáveis por ministrar as disciplinas diretamente relacionadas ao trabalho aqui desenvolvido;

Aos amigos e companheiros de curso durante esses dois anos – Armando, Brenner, Clebson, Cristiano, Flávio, João, Karla, Layla, Maicon, Milena e Talita – com os quais os momentos de alegria foram compartilhados e as dificuldades enfrentadas tornaram-se menores;

Aos colegas de laboratório: Artur, Bruno, Débora, Esther, Larissa, Ludmila, Mariana, Rodolfo e Rodrigo;

Aos amigos que não fazem parte da UFES, mas que são muito importantes para mim: Aline Viana, Daniel, Elder, Laila, Letícia, Mara, Marcos Aurélio, Núbia, Pamela, Paula, Plínio e Zizu.

Aos meus avós, Ilson e Ziza, que participaram diretamente de cada conquista já alcançada por mim. A todos os meus familiares, em especial à minha tia Márcia e minha prima Yasmin. E também aos meus “quase” sogros Alair e Lusia.

A todos os meus irmãos em Cristo da IPB Água Viva, que oraram e intercederam por mim durante a minha jornada até aqui e que de alguma forma lutam juntamente comigo para que meus sonhos possam ser alcançados. Quero destacar aqui o Rev. José Ernesto Conti e sua esposa Ângela.

À Dirce, secretária do Programa de Pós-Graduação em Química, que sempre me recebeu com alegria e dedicação.

Ao Núcleo de Competências em Química do Petróleo do DQUI por permitir as análises de RMN;

Aos órgãos financiadores pelo suporte: CAPES, CNPq e FAPES. E mais uma vez a CAPES pela bolsa concedida;

Ao Programa de Pós-Graduação em Química ao qual sou vinculado.

“O uso de óleos vegetais como combustível pode parecer insignificante hoje em dia. Mas, com o tempo, estes produtos se tornarão tão importantes como o petróleo e o carvão são atualmente”. (Rudolf Diesel)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Exemplo de uma molécula de triglicerídeo.....	20
Figura 2. A reação de transesterificação.	22
Figura 3. O momento angular (\vec{p}) intrínseco do núcleo gera o momento magnético ($\vec{\mu}$).	27
Figura 4. (a) Núcleos de ^1H ocupam estados degenerados; (b) possíveis orientações dos núcleos de ^1H após a aplicação de \vec{B}_0 ; (c) representação da diferença de energia entre tais orientações. ...	29
Figura 5. Conjunto de núcleos em movimento de precessão com magnetização resultante \vec{M}_0 na direção do campo magnético externo \vec{B}_0	30
Figura 6. A aplicação do pulso de radiofrequência gera o campo magnético \vec{B}_1 que provoca a transferência da magnetização resultante \vec{M}_0 para o plano $x'y'$	31
Figura 7. Representação do FID.	31
Figura 8. Sequência de pulsos de spin-eco e o sinal obtido (eco).	33
Figura 9. Representação vetorial da sequência de pulsos de spin-eco.	34
Figura 10. Sequência de pulsos de CPMG e o sinal de decaimento obtido, curva em azul.	35
Figura 11. Representação vetorial da sequência de pulsos de CPMG.....	36
Figura 12. Sequência de pulsos da técnica de CWFP.	37
Figura 13. Sinal de CWFP de uma amostra de ácido fosfórico (RMN de ^1H). ^{14,35}	37
Figura 14. Sequência de pulsos da técnica de CP-CWFP.....	39
Figura 15. Sinal de CP-CWFP de uma amostra de óleo de milho (RMN de ^1H).	39
Figura 16. Relação linear entre o sinal de RMN de ^1H e o teor de óleo em sementes.	41
Figura 17. Decaimento do sinal de RMN de ^1H com T_2 curto, como de proteínas, carboidratos e água de hidratação, e decaimento com T_2 mais longo, como água livre e óleo em sementes.....	41
Figura 18. Métodos de agrupamentos hierárquicos: a) do vizinho mais próximo; b) do vizinho mais distante; c) da distância média.	44
Figura 19. Foto do Maran Ultra – 2 da Oxford Instruments.....	51
Figura 20. Fotos do espectrômetro CAT-100 da Tecmag e do Mini Spec PC 100 da Bruker.	56
Figura 21. Curvas analíticas para as sementes de soja de acordo com a sequência de pulsos aplicada: a) pulso único; b) spin-eco; c) CPMG e d) CWFP.....	60
Figura 22. Sinais adquiridos para a Amostra 1 de pinhão manso antes da etapa de extração dos	

lipídeos (curvas em preto) e após a extração (curvas em vermelho), de acordo com a sequência de pulsos aplicada: a) pulso único; b) spin-eco; c) CPMG; d) CWFP.....	64
Figura 23. Sinais adquiridos para a Amostra 1 de pinhão manso antes da etapa de extração dos lipídeos (curvas em preto) e após a extração (curvas em vermelho) com aplicação da sequência de CWFP em um total de 4 transientes adquiridos.	65
Figura 24. Comparação entre os valores dos rendimentos obtidos pelo método de RMN e por extração por solvente, com as respectivas sequências de pulsos: a) pulso único; b) spin-eco; c) CPMG e d) CWFP. As retas em cada gráfico correspondem à função identidade.	66
Figura 25. Sinais adquiridos para a Amostra 1 de cutieira antes da etapa de desidratação (curvas em preto) e após a desidratação (curvas em vermelho), de acordo com a sequência de pulsos aplicada: a) CPMG (16 primeiros ecos); b) spin-eco.....	68
Figura 26. Sinais de decaimento obtidos por CPMG para cinco amostras de óleo vegetal.	70
Figura 27. Curva de correlação entre os valores de T_2 e de viscosidade cinemática para cinco óleos vegetais.....	71
Figura 28. Sinais de decaimento obtidos por CPMG, adquiridos no Maran, para as quinze amostras de óleos vegetais.....	72
Figura 29. Curvas de correlação entre os valores de T_2 dos óleos vegetais e os respectivos parâmetros de qualidade dos biodieseis produzidos a partir deles: a) viscosidade cinemática; b) índice de cetano; c) índice de iodo.	74
Figura 30. Dendograma resultante da análise de HCA dos dados obtidos por CPMG.	76
Figura 31. Gráfico de escores resultante da análise de PCA dos dados obtidos por CPMG.	76
Figura 32. Curva de correlação entre os valores de T_2 das quinze amostras de óleo vegetal e seus valores de PC1.	77
Figura 33. Estruturas químicas do linoleato e do α -eleosterato de metila.	78
Figura 34. Sinais de CPMG normalizados para as amostras de sementes intactas.	79
Figura 35. Dendograma resultante da análise de HCA dos dados obtidos por CPMG para as amostras de sementes intactas.....	80
Figura 36. Gráfico de escores resultante da análise de PCA dos dados obtidos por CPMG para as amostras de sementes intactas.	81
Figura 37. Sinais de CWFP (a) e CP-CWFP (b) adquiridos no Tecmag para a amostra de canola.	82
Figura 38. Sinais de CWFP e CP-CWFP adquiridos no Tecmag para a amostra de dendê.	83

Figura 39. Sinais de CWFP (a) e CP-CWFP (b) adquiridos no Tecmag para as quinze amostras de óleo vegetal.	83
Figura 40. Correlação entre os valores de T^* obtidos por CWFP e CP-CWFP para as quinze amostras de óleo vegetal.	85
Figura 41. Correlação entre os valores de T_1 (a) e T_2 (b) obtidos por CWFP e CP-CWFP para as quinze amostras de óleo vegetal.	85
Figura 42. Correlação entre os valores de T_2 , das quinze amostras de óleo vegetal, obtidos por: a) CWFP e CPMG; b) CP-CWFP e CPMG.....	86
Figura 43. Dendograma resultante da análise de HCA dos dados obtidos por CWFP.	86
Figura 44. Gráfico de escores resultante da análise de PCA dos dados obtidos por CWFP.	87
Figura 45. Curvas de correlação entre os valores de T_2 calculados por CWFP para as quinze amostras de óleo vegetal e os valores de PC_1 (a) e PC_2 (b) das mesmas amostras.	88
Figura 46. Curva de correlação entre os valores de M_{EE} dos sinais de CWFP e os valores de PC_1	88
Figura 47. Dendograma resultante da análise de HCA dos dados obtidos por CP-CWFP.	89
Figura 48. Gráfico de escores resultante da análise de PCA dos dados obtidos por CWFP.	89
Figura 49. Curvas de correlação entre os valores de T_2 calculados por CP-CWFP para as quinze amostras de óleo vegetal e os valores de PC_1 (a) e PC_2 (b) das mesmas amostras.	90
Figura 50. Curva de correlação entre os valores de M_{EE} dos sinais de CP-CWFP e os valores de PC_1	90

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Principais ácidos graxos encontrados nos óleos vegetais.	21
Tabela 2. Dependência do número quântico de spin (I) com o número de prótons e nêutrons do núcleo.	28
Tabela 3. Sementes oleaginosas selecionadas para estudo.	50
Tabela 4. Ácidos graxos encontrados nas matrizes oleaginosas e suas características.	54
Tabela 5. Composições em ácidos graxos das oleaginosas em estudo (determinado por cromatografia gasosa - CG).	54
Tabela 6. Dados referentes à construção das curvas analíticas para as sementes de soja.	59
Tabela 7. Coeficientes de correlação das curvas analíticas.	60
Tabela 8. Dados relacionados aos cálculos dos rendimentos dos processos de extração do óleo das amostras de sementes de soja pelo método clássico (m/m) e por RMN de ^1H	62
Tabela 9. Rendimentos (%) dos processos de extração do óleo das sementes oleaginosas medida pelo método clássico (m/m) e por RMN de ^1H	63
Tabela 10. Erros médios nas predições dos rendimentos dos processos de extração medidos por RMN de acordo com a sequência de pulsos aplicada.	63
Tabela 11. Teor de óleo médio (%) nas sementes estudadas.	67
Tabela 12. Constantes de relaxação transversal (T_2) e viscosidades cinemáticas de cinco matrizes oleaginosas analisadas no Maran.	71
Tabela 13. Constantes de relaxação transversal (T_2) das quinze amostras de óleo vegetal analisadas no Maran e os valores previstos de viscosidade, índice de cetano e índice de iodo dos biodieseis produzidos a partir dessas matrizes.	74
Tabela 14. Classificação das amostras de óleo vegetal para as análises quimiométricas.	75
Tabela 15. Sementes intactas selecionadas para análise.	79
Tabela 16. Valores de T^* , T_1 e T_2 , das quinze amostras de óleo vegetal, obtidos a partir dos sinais de CWFP e CP-CWFP.	84

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANP: Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis

ASTM: *American Society for Testing and Materials*

BX: Blenda contendo X% em volume de biodiesel em óleo diesel

B5: Blenda contendo 5% em volume de biodiesel em óleo diesel

CG: Cromatografia Gasosa

CN: *Cetane Number* (Índice de Cetano)

CNNPA: Conselho Nacional de Normas e Padrões para Alimentos

CNPE: Conselho Nacional de Política Energética

CP: *Carr-Purcell*

CPMG: *Carr-Purcell-Meiboom-Gill*

CWFP: *Continuous Wave Free Precession*

CP-CWFP: *Carr-Purcell - Continuous Wave Free Precession*

DQUI: Departamento de Química

EE: Estado Estacionário

EN: *European Normalization*

EQE: Estado Quase Estacionário

FID: *Free Induction Decay* (Decaimento Livre de Indução)

HCA: *Hierarchical Cluster Analysis* (Análise de Agrupamentos Hierárquicos)

ID: *Ignition Delay* (Tempo para o Combustível entrar em Ignição)

IN: *Iodine Number or Iodine Value* (Índice de Iodo)

NCQP: Núcleo de Competências em Química do Petróleo

PC: *Principal Component* (Componente Principal)

PCA: *Principal Component Analysis* (Análise de Componentes Principais)

RF: Radiofrequência

RMN: Ressonância Magnética Nuclear

RMN de ¹H: Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

SV: *Saponification Value* (Índice de Saponificação)

UFES: Universidade Federal do Espírito Santo

LISTA DE SÍMBOLOS

A_i – percentual de um determinado ácido graxo

\vec{B}_0 – campo magnético externo

\vec{B}_1 – campo magnético oscilante

C – matriz de covariância

D – coeficiente de difusão

h – constante de Planck ($6,626 \times 10^{-34}$ J.s)

I – número quântico de spin

I_{eco} – intensidade do sinal do eco

k – constante de Boltzmann

L – matriz de pesos

m – número de orientações que o núcleo pode assumir em relação ao campo magnético externo

m_i – número quântico magnético de spin

$m_{amostra}$ – massa da amostra

$m_{óleo}$ – massa de óleo extraído

\vec{M} – magnetização

\vec{M}_0 – magnetização resultante

M_{EE} – intensidade da magnetização no estado estacionário

$\vec{M}_{x'}$ – magnetização componente x'

$\vec{M}_{y'}$ – magnetização componente y'

\vec{M}_z – magnetização componente z

$\vec{M}_{x'y'}$ – magnetização projetada no eixo $x'y'$

MW_i – massa molecular de um determinado ácido graxo

n – número de pulsos aplicados na sequência

N_α – população de spins no nível de menor energia

N_β – população de spins no nível de maior energia

R – matriz de correlação

R^2 – coeficiente de correlação da curva

$R(\%)$ – rendimento percentual

S – matriz de escores

t_p – tempo de aplicação do pulso de radiofrequência
 T^* – constante de relaxação no estado quase estacionário
 T_i – teor de óleo antes do processo de extração
 T_f – teor de óleo após o processo de extração
 $T(\%)$ – teor de óleo percentual
 T_1 – constante de relaxação longitudinal
 T_2 – constante de relaxação transversal
 T_2^* – constante de relaxação transversal influenciada pela inhomogeneidade do campo magnético externo
 X – matriz dos dados originais
 y_i – o percentual de um determinado ácido graxo dividido por cem ($A_i/100$)
 α – nível de menor energia
 β – nível de maior energia
 γ – razão magnetogírica
 δ – número de duplas ligações em um determinado ácido graxo
 ΔE – diferença de energia
 $\Delta\omega$ – frequência de offset
 θ – ângulo de rotação de M_0 para o plano $x'y'$
 Λ – amplitude do sinal de RMN
 Λ_i – amplitude do sinal de RMN antes do processo de extração
 Λ_f – amplitude do sinal de RMN após o processo de extração
 μ – viscosidade cinemática
 μ_i – viscosidade cinemática de um determinado ácido graxo
 $\vec{\mu}$ – momento magnético nuclear
 ν_0 – frequência de Larmor em Hz
 $\vec{\rho}$ – momento angular de spin
 τ – tempo decorrido entre dois pulsos em uma sequência de pulsos
 τ_c – tempo de correlação
 ω – frequência de precessão
 ω_0 – frequência de Larmor e frequência do referencial rotativo
 ψ – ângulo de defasagem

RESUMO

Para realizar a seleção de variedades de oleaginosas, com o intuito de se produzir biodiesel, o teor de óleo de diversas matrizes foi determinado por diferentes experimentos de RMN de baixo campo de ^1H , variando-se a sequência de pulsos aplicada, sendo elas: pulso único, spin-eco, CPMG e CWFP (*Continuous Wave Free Precession*). Os experimentos com aplicação das três primeiras sequências apresentaram elevada correlação com o método de extração por solvente e entre si. Os melhores resultados foram adquiridos a partir dos experimentos de CPMG. Já quando foi utilizada a sequência de CWFP, a correlação com o método de extração por solvente foi baixíssima e os resultados não foram compatíveis com os obtidos pelas outras sequências. A qualidade dos óleos vegetais também foi avaliada. O estudo foi baseado na correlação existente entre os valores de T_2 dos óleos, obtidos através dos sinais de RMN de ^1H adquiridos por CPMG, e as propriedades dos mesmos, tais como: viscosidade, índice de iodo e índice de cetano. Essas análises foram realizadas com auxílio das ferramentas quimiométricas de HCA e PCA. Os resultados foram significativos, de forma que as matrizes oleaginosas puderam ser separadas de acordo com a qualidade das mesmas. Sinais adquiridos com as sequências de CWFP e CP-CWFP (*Carr-Purcell - Continuous Wave Free Precession*) também foram utilizados em análises quimiométricas. Entretanto, verificou-se que os sinais gerados a partir dessas sequências dependem tanto de T_1 quanto de T_2 . Dessa forma, com exceção das matrizes oleaginosas mais viscosas, nas análises de HCA e PCA as matrizes não foram agrupadas de acordo com suas qualidades. Os experimentos conduzidos por CP-CWFP ainda foram mais vantajosos do que os conduzidos por CWFP por apresentarem uma maior variação de amplitude do sinal no estado quase estacionário (EQE). Sendo assim, com uso da sequência de pulsos mais adequada, a técnica de RMN de ^1H de baixo campo foi confirmada como uma ferramenta importante no auxílio da escolha de matrizes oleaginosas para produção de biodiesel.

Palavras-chave: RMN de baixo campo. Biodiesel. Teor de óleo. Qualidade do óleo.

ABSTRACT

In order to choose from the variety of oleaginous plants for biodiesel production, the oil content of several matrices was determined through different experiments of low-field ^1H Nuclear Magnetic Resonance (NMR) with varied pulse sequences, namely single pulse, spin-echo, CPMG and CWFP (*Continuous Wave Free Precession*). The experiments applying the first three sequences showed high correlation with each other and with the solvent extraction method. The best results were achieved through CPMG experiments. When the CWFP sequence was used, the correlation with the solvent extraction method was very low and the results were not compatible with those employing the other sequences. Quality of the vegetable oils was also evaluated. The study was based on the existing correlation between the T_2 values of the oils — obtained through ^1H NMR signals achieved through CPMG — and their properties, such as viscosity, iodine index and cetane index. These analyses were carried out using HCA and PCA chemometric tools. The results were significant enough to separate the oleaginous matrices according to their quality. The signals achieved using the CWFP and CP-CWFP (*Carr-Purcell - Continuous Wave Free Precession*) sequences were also used in the chemometric analyses. However, the study identified that the signals generated from these sequences depend both on T_1 and T_2 . Therefore except for the most viscous oleaginous matrices, in HCA and PCA analyses, the matrices were not grouped according to their qualities. The experiments carried out through CP-CWFP were even more advantageous than those through CWFP because the former had higher signal amplitude variation in the quasi steady state (QSS). Thus, using the most adequate pulse sequence, the low-field ^1H NMR technique was confirmed as an important tool to help selecting oleaginous matrices for biodiesel production.

Keyword: Low-field NMR. Biodiesel. Oil content. Oil quality.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	19
1.1 Óleos Vegetais	19
1.2 Biodiesel.....	21
1.3 Parâmetros de Qualidade de Biodiesel	23
1.3.1 Índice de Cetano	23
1.3.2 Viscosidade Cinemática	24
1.3.3 Estabilidade Oxidativa.....	25
1.4 Mercado Brasileiro de Biodiesel	26
1.5 Fundamentos de RMN.....	27
1.5.1 Relaxação Longitudinal (T_1)	31
1.5.2 Relaxação Transversal (T_2).....	32
1.5.3 CWFP e CP-CWFP	36
1.6 RMN de Baixo Campo e o Teor de Óleo em Sementes	40
1.7 Análises Quimiométricas.....	42
1.7.1 Análise de Agrupamentos Hierárquicos	42
1.7.2 Análise de Componentes Principais.....	45
2. OBJETIVOS	48
2.1 Objetivos Gerais	48
2.2 Objetivos Específicos.....	48
3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	50
3.1 Determinação do Teor de Lipídeos das Sementes Oleaginosas	50
3.2 Avaliação da Qualidade dos Lipídeos Presentes nas Sementes Oleaginosas	52
3.2.1 Relação entre T_2 e Parâmetros de Qualidade de Biodiesel	53
3.2.2 Análises Quimiométricas dos dados obtidos por CPMG	55
3.2.3 Análises por CWFP e CP-CWFP.....	55
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	59

4.1 Determinação do Teor de Lipídeos das Sementes Oleaginosas	59
4.2 Avaliação da Qualidade dos Lipídeos Presentes nas Sementes Oleaginosas	70
4.2.1 Relação entre T_2 e Parâmetros de Qualidade de Biodiesel	70
4.2.2 Análises Quimiométricas dos dados obtidos por CPMG	75
4.2.2.1 Amostras de Óleos Vegetais	75
4.2.2.2 Amostras de Sementes Intactas	79
4.2.3 Análises dos dados obtidos por CWFP e CP-CWFP.....	81
4.2.3.1 Estudos Quimiométricos dos dados obtidos por CWFP e CP-CWFP	86
5. CONCLUSÃO	91
6. SUGESTÕES PARA ESTUDOS FUTUROS	93
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	94
ANEXOS	100
Anexo A.....	100
Anexo B.....	102
Anexo C	104
Anexo D	106
Anexo E.....	108

1. INTRODUÇÃO

A alta demanda energética do mundo industrializado é suprida, majoritariamente, através do petróleo, carvão e gás natural. Além de essas fontes serem finitas, o que levará ao seu provável esgotamento devido às altas taxas de consumo atual, elas estão associadas a problemas ambientais devidos à poluição causada pelo seu uso. Portanto, torna-se cada vez mais necessário desenvolver energias renováveis de uso ilimitado e que provoquem um menor impacto ambiental.^{1,2}

Nesse sentido, há um recente interesse em fontes alternativas para combustíveis à base de petróleo. Dentre elas, surgem os óleos vegetais que inicialmente foram utilizados *in natura*, substituindo o óleo diesel em motores de ignição por compressão. Porém o uso direto nos motores provoca muitos problemas, causados por algumas propriedades físicas do óleo, especialmente sua alta viscosidade. Para superar tais problemas, sem que o motor seja modificado, torna-se necessário modificar quimicamente o óleo vegetal. Dentre os métodos possíveis - diluição, microemulsão com metanol ou etanol, craqueamento catalítico e reação de transesterificação do óleo com alcoóis de cadeia curta - o mais utilizado é este último, levando à produção de biodiesel.²⁻⁶

1.1 Óleos Vegetais

Os óleos vegetais são produtos naturais constituídos de uma mistura de triglicerídeos obtidos a partir da condensação entre uma molécula de glicerol e três moléculas de ácidos graxos. Esses compostos pertencem à classe dos lipídeos e são constituintes, também, das gorduras.^{6,7}

A diferença entre óleos e gorduras reside da sua aparência física. As gorduras apresentam aspecto sólido, pois são constituídas por uma alta proporção de ácidos graxos saturados, já os óleos apresentam aspecto líquido, devido uma maior concentração de ácidos graxos insaturados. A resolução n° 20/77 do CNNPA define a temperatura de 20 °C como limite inferior para o ponto de fusão das gorduras, classificando como óleo quando o ponto de fusão situa-se abaixo de tal temperatura.^{7,8}

Os ácidos graxos que compõem os triglicerídeos diferem-se pelo comprimento da cadeia hidrocarbonada e pelo número, posição e orientação das duplas ligações. Além disso, a cadeia carbônica de um ácido graxo poderá apresentar substituintes, como, por exemplo, grupos metila e hidroxila. Estas variações são responsáveis pelas diferentes propriedades físico-químicas dos óleos vegetais (lipídeos).⁶⁻⁸

A Figura 1 apresenta uma molécula de triglicerídeo na qual as cadeias carbônicas que a compõem são provenientes de ácidos graxos distintos. Porém, tais cadeias podem ser iguais, isso depende da composição do óleo vegetal em ácidos graxos na oleaginosa de origem.

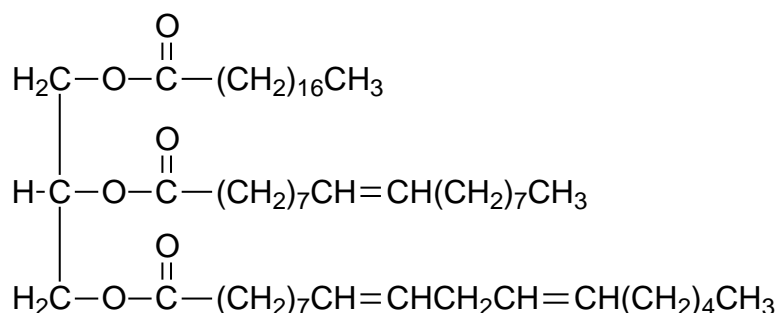


Figura 1. Exemplo de uma molécula de triglicerídeo.

As proporções dos diferentes ácidos graxos nos óleos e gorduras vegetais variam de acordo com as plantas das quais são derivados, sendo que, mesmo dentro de uma mesma espécie, existem variações na composição, estabelecidas pelas condições climáticas e pelo tipo de solo em que são cultivados.

Informações com relação à estrutura de um ácido graxo podem ser fornecidas através de simbologias. Desta forma, pode-se representar um ácido graxo, de maneira simplificada, pelo número de átomos de carbono que ele possui e pelo seu grau de insaturação, indicando o número de duplas ligações presentes em sua cadeia (por exemplo, C18:2). De forma mais completa a posição das duplas também pode ser indicada. Neste caso a cadeia é numerada a partir do carbono da carboxila e os menores números de cada par de carbonos que fazem parte das duplas ligações indicam as posições das insaturações. Essa indicação é feita após a letra grega delta, Δ , (exemplificando: C18:2 $\Delta^{9,12}$).⁸

A Tabela 1 fornece os nomes de alguns dos principais ácidos graxos encontrados nos óleos vegetais, bem como informações sobre sua estrutura.

Tabela 1. Principais ácidos graxos encontrados nos óleos vegetais.

Ácido graxo	Estrutura
Ácido Palmítico	16:0
Ácido Esteárico	18:0
Ácido Oléico	18:1 Δ^9
Ácido Linoléico	18:2 $\Delta^{9,12}$
Ácido Linolênico	18:3 $\Delta^{9,12,15}$

Os óleos vegetais já são estudados como combustíveis em máquinas diesel desde 1900. Nesse ano, em uma exposição em Paris, a companhia francesa Otto demonstrou o funcionamento de um pequeno motor diesel com óleo de amendoim. Esta experiência foi tão bem sucedida que apenas alguns dos presentes perceberam as circunstâncias em que a mesma havia sido conduzida.^{2,9,10} Entretanto, sabe-se que a aplicação direta dos óleos vegetais nos motores é limitada por algumas propriedades físicas dos mesmos. Além de sua alta viscosidade, sua baixa volatilidade e seu caráter poli-insaturado implicam em problemas nos motores como acúmulo de material oleoso nos bicos de injeção, depósitos de carbono na câmara de combustão e queima incompleta do óleo.^{3-6,10}

Assim, visando reduzir a viscosidade dos óleos vegetais, a reação de transesterificação tem se apresentado como a melhor opção visto que o processo é simples e o produto obtido, biodiesel, possui propriedades similares às do diesel.²⁻⁶

1.2 Biodiesel

Uma alternativa de combustível deve ser tecnicamente viável, economicamente competitiva, ambientalmente aceitável e ter fácil disponibilidade. O biodiesel se enquadra nesses parâmetros, uma vez que: pode ser misturado ao diesel, já que suas características fluidodinâmicas, viscosidade e densidade, são similares, o que significa que nenhuma adaptação precisa ser feita no sistema de injeção dos motores; está essencialmente livre de enxofre e de compostos aromáticos, é biodegradável, proveniente de fonte renovável e não tóxico, o que reduz os impactos ambientais;^{4,10,11} e o Brasil possui cerca de 150 milhões de hectares que poderão ser incorporados à

produção agrícola, dessa forma culturas de soja, milho, mamona, girassol, babaçu, etc., poderão ser criadas com o intuito da produção de biodiesel.⁴

Por definição, biodiesel é um substituto natural do diesel de petróleo que pode ser produzido a partir de fontes renováveis como óleos vegetais, incluindo óleo residual de fritura de alimentos, e gorduras animais. Quimicamente, é definido como sendo um mono-álquil éster de ácidos graxos de cadeia longa derivados de fontes naturais, obtido por meio de um processo de transesterificação, no qual ocorre a reação dos triglicerídeos presentes no óleo, em que as cadeias carbônicas R podem ou não ser iguais, com um álcool de cadeia curta, estimulada por um catalisador (Figura 2).^{1,2,5,12} Obtém-se como subproduto da reação a glicerina (glicerol), que pode ser utilizada de diversas formas na indústria química, sendo seu aproveitamento importante na viabilização do processo de produção do biodiesel.⁵

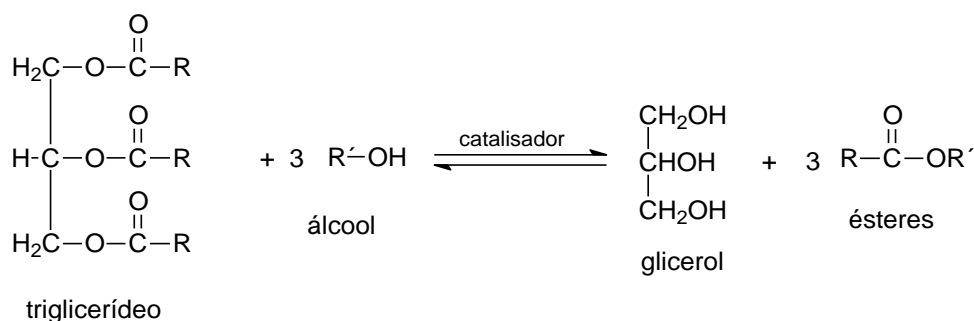


Figura 2. A reação de transesterificação.

A reação de transesterificação é um equilíbrio onde um excesso de álcool é necessário para deslocá-lo para a formação de produtos. Os catalisadores podem ser ácidos, básicos ou enzimáticos, porém a catálise alcalina é a mais utilizada devido às suas vantagens em relação à velocidade da reação, ao maior rendimento e à seletividade. Quanto ao álcool os mais frequentemente empregados são os de cadeia curta, metanol, etanol, propanol e butanol.¹⁻⁶ No Brasil o uso do etanol anidro é mais vantajoso, pois ele é produzido em larga escala para ser misturado à gasolina, além de ser um produto obtido da biomassa, proveniente da cana-de-açúcar, tornando o processo totalmente independente do petróleo e totalmente agrícola.^{5,13}

Atualmente a maior parte do biodiesel produzido no mundo é proveniente do óleo

de soja utilizando metanol por catálise básica. Porém todos os óleos vegetais podem ser transesterificados. Fatores como geografia, clima e economia determinam o óleo vegetal de maior interesse para a produção de biocombustíveis.⁵

1.3 Parâmetros de Qualidade de Biodiesel

Sabe-se que a qualidade do biodiesel está relacionada a várias propriedades, tais como: calor de combustão, qualidade de ignição, ponto de fluidez, estabilidade oxidativa, viscosidade, lubricidade e etc. Embora todos esses fatores contribuam para o bom funcionamento do combustível, as principais características que determinam a qualidade e a identidade do combustível são a qualidade de ignição (determinada pelo índice de cetano, CN), a viscosidade cinemática (μ) e a estabilidade oxidativa (estimada pelo índice de iodo, IN).^{14,15}

1.3.1 Índice de Cetano

O índice de cetano (CN) é um indicador da qualidade de ignição dos combustíveis de motores a diesel. Este índice está relacionado à demora do combustível para entrar em ignição (ID), ou seja, ao tempo decorrido entre a entrada do combustível na câmara de combustão e o início da ignição. Quanto menor for o ID, melhor será a qualidade de ignição e maior será o índice de cetano.^{16,17}

Normas foram estabelecidas em todo o mundo para a determinação do índice de cetano, entre elas encontra-se a ASTM D613 da *American Society for Testing and Materials*. Nessa norma, um hidrocarboneto de cadeia linear longa, o hexadecano ($C_{16}H_{34}$), que é conhecido usualmente por cetano, deu nome ao índice. Este composto é o alto padrão de qualidade na escala do CN, sendo que, o valor máximo do índice (100) foi atribuído a um combustível com 100% de hexadecano. Já o composto altamente ramificado 2,2,4,4,6,8,8-heptametilnonano (HMN, também $C_{16}H_{34}$), que apresenta uma pobre qualidade de ignição, é o padrão de baixa qualidade da escala. Ao combustível com 100% de HMN foi atribuído o valor mínimo do índice (15).^{16,17}

De acordo com a ASTM D613, o CN de um combustível em teste é igual a

porcentagem em volume de hexadecano numa mistura de hexadecano (CN = 100) e heptametilnonano (CN = 15) que apresenta, no mesmo motor, igual capacidade de combustão do combustível em teste em condições normais especificados pela norma. O procedimento de análise do CN é complexo e sua execução envolve a injeção do combustível em um cilindro de um motor de ignição por compressão com a taxa de compressão variando continuamente sob um conjunto fixo de condições.¹⁶

Altos valores de CN estão correlacionados com a redução da emissão de óxidos de nitrogênio (NO_x) e hidrocarbonetos não queimados, o que é importante para reduzir a poluição atmosférica.^{16,17}

O índice de cetano de biodieseis depende da composição em ácidos graxos dos mesmos. Quanto maior a cadeia dos ácidos maior será o índice e o aumento do grau de insaturações diminui o valor do CN.^{17,18} A norma ASTM D6751 estabelece um mínimo de 47 para o CN de biodieseis. Já na EN 14214, da *European Normalization*, o mínimo é de 51.¹⁷

1.3.2 Viscosidade Cinemática

A viscosidade afeta a atomização do combustível após a injeção na câmara de combustão o que ocasiona a formação de depósitos no motor. Quanto maior a viscosidade, maior a tendência do combustível para causar tais problemas. A alta viscosidade dos óleos vegetais é o principal fator que impede seu uso como combustível e por isso realiza-se o processo de transesterificação para sintetizar o biodiesel. A viscosidade deste biocombustível é cerca de uma ordem de grandeza inferior ao do óleo vegetal.^{17,19}

É a composição em ácidos graxos dos biodieseis que também determina sua viscosidade. Assim como o CN, a viscosidade aumenta com o aumento das cadeias e diminui com o aumento do grau de insaturações. A norma ASTM D6751 estabelece o intervalo aceitável para viscosidade cinemática de biodieseis de 1,9-6,0 mm²/s e para a norma EN 14214 o intervalo é de 3,5-5,0 mm²/s.^{17,19}

1.3.3 Estabilidade Oxidativa

A estabilidade oxidativa afeta os biodieseis, principalmente, durante o período de armazenamento. Fatores como o contato com o ar, altas temperaturas e a presença de metais facilitam a oxidação. Entretanto, a estrutura dos ácidos graxos que constituem o biodiesel é o fator determinante para a estabilidade oxidativa, especialmente o grau de insaturação. A razão da auto-oxidação é justamente a presença das duplas ligações nas cadeias dos ácidos graxos.¹⁷

A velocidade do processo de auto-oxidação depende do número e da posição das duplas ligações nas cadeias dos ácidos graxos constituintes do biodiesel. Ácidos graxos que apresentam posições bis-alílicas, como ácido linoleico e linolênico, são mais suscetíveis à oxidação do que aqueles que apresentam apenas posições alílicas, como o ácido oleico. Para o ácido linolênico a suscetibilidade é ainda maior do que para o linoleico, pois este apresenta apenas uma posição bis-alílica enquanto o ácido linolênico apresenta duas.¹⁷

Através do índice de iodo é possível medir o grau de insaturação de óleos e biodieseis. Este índice é expresso em número de gramas de iodo absorvido por 100,0 g de amostra. Por conseguinte, quanto maior o índice de iodo maior o grau de insaturação.^{20,21} Uma limitação dessa análise é a insensibilidade quanto ao posicionamento relativo entre as duplas ligações na cadeia carbônica dos ácidos graxos.

Sendo assim, como as posições das duplas ligações na cadeia dos ácidos graxos também interferem no grau de estabilidade oxidativa, e não somente o número delas, oficialmente a avaliação da estabilidade oxidativa é realizada de acordo com a metodologia EN 14112, na qual utiliza-se o método de Rancimat a 110° C, com um tempo mínimo aceitável de indução de 6 h.^{17,22} Entretanto, a estimativa realizada pelo índice de iodo (IN) é suficiente para as discussões que serão aqui desenvolvidas.

1.4 Mercado Brasileiro de Biodiesel

O biodiesel foi introduzido na matriz energética brasileira de acordo com a Lei nº 11.097, publicada em 13 de janeiro de 2005, que ampliou a competência administrativa da ANP, passando, desde então, a denominar-se Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. A partir da publicação da citada lei, a ANP assumiu a atribuição de regular e fiscalizar as atividades relativas à produção, controle de qualidade, distribuição, revenda e comercialização do biodiesel e da mistura óleo diesel-biodiesel (BX).²³

A produção de biodiesel, que atende as necessidades do mercado brasileiro, é realizada através da reação de transesterificação dos triglicerídeos presentes nos óleos vegetais. As principais matrizes oleaginosas utilizadas para este fim são: soja, mamona, girassol, algodão, amendoim, etc., que produzem cerca de uma tonelada de óleo por hectare por ano. A produtividade desses vegetais não é economicamente e nem energeticamente sustentável, não sendo suficiente para atender a demanda futura do mercado. O dendê é a única cultura comercial disponível no país que possui alta produtividade, com potencial de produção superior a 5 Ton/ha/ano de óleo vegetal e balanço energético acima de cinco. Entretanto, o dendê só é cultivado na região amazônica, devido a sua alta demanda hídrica, e o seu óleo é considerado fino, sendo mais utilizado nas indústrias farmacêuticas, de cosméticos, de polímeros, etc.²⁴

Portanto, torna-se necessária a busca de novas fontes oleaginosas para atender a demanda nacional de biodiesel, visto que, é obrigatório o uso de 5% deste produto em mistura com o diesel de petróleo (B5) desde 1º de janeiro de 2010, conforme a Resolução Nº6 do CNPE, de 16/09/2009, publicada no DOU (Diário Oficial da União) em 26/10/2009.

Para realizar a seleção genética de variedades de oleaginosas é indispensável conhecer o teor e a qualidade do óleo das sementes. O método clássico utilizado na determinação do teor de óleo é a extração por solvente, um processo demorado e destrutivo em relação às amostras.²⁵ A ressonância magnética nuclear (RMN) de hidrogênio é um método alternativo que fornece o teor de óleo de forma rápida, sem

destruir a amostra. Além disso, a amostra não precisa de preparação sofisticada, o que pode prescindir o uso de produtos químicos adicionais, a análise pode ser realizada no tecido vegetal “in vivo” e os resultados são coletados, processados e armazenados diretamente em microcomputador.²⁵⁻²⁷ Além disso, a RMN de ^1H também tem se apresentado como uma interessante ferramenta no estudo da qualidade dos óleos vegetais para produção de biodiesel.^{14,15}

1.5 Fundamentos de RMN

As técnicas de espectroscopia relacionam a interação da radiação eletromagnética com a matéria. Na espectroscopia por RMN alguns núcleos atômicos constituintes de uma determinada amostra, na presença de um campo magnético, podem absorver radiação eletromagnética na região de radiofrequência (rf) em uma frequência definida pelas características estruturais da amostra. Os núcleos sensíveis a este fenômeno são aqueles que se comportam como pequenos dipolos magnéticos, pequenos ímãs, devido sua rotação em torno do seu próprio eixo, denominado momento angular de spin ($\vec{\rho}$) e descrito em termos do número quântico de spin (I). Como o núcleo é eletricamente carregado, ele apresenta um momento magnético ($\vec{\mu}$) gerado por causa de seu momento angular intrínseco, Figura 3.²⁸⁻³⁰

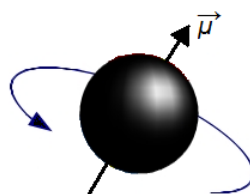


Figura 3. O momento angular ($\vec{\rho}$) intrínseco do núcleo gera o momento magnético ($\vec{\mu}$).

O número quântico de spin pode assumir valores inteiros, meio-inteiros ou zero, na qual I igual a zero corresponde a um núcleo que apresenta momento angular total nulo ($\vec{\rho} = 0$), ou seja, não ocasiona o fenômeno de RMN. Esse número quântico depende do número de prótons e nêutrons presentes no núcleo, se ambos forem pares I será zero.²⁸⁻³⁰ A Tabela 2 demonstra a relação entre I e a população de prótons e nêutrons do núcleo.

Os núclídeos que contêm número ímpar de prótons e/ou nêutrons apresentam I diferente de zero, e a maioria dos elementos apresenta pelo menos um isótopo com essa configuração. O mais utilizado é o de hidrogênio (^1H), que possui $I = 1/2$, por ter alta sensibilidade e abundância natural.^{25,28-30}

Tabela 2. Dependência do número quântico de spin (I) com o número de prótons e nêutrons do núcleo.

I	Massa Atômica	Nº Atômico	Exemplos
Meio Inteiro	Ímpar	Par ou Ímpar	^1_1H (1/2); $^{17}_8\text{O}$ (5/2); $^{19}_9\text{F}$ (1/2); $^{13}_6\text{C}$ (1/2);
Inteiro	Par	Ímpar	^2_1H (1); $^{14}_7\text{N}$ (1); $^{10}_5\text{B}$ (3);
Zero	Par	Par	$^{12}_6\text{C}$ (0); $^{16}_8\text{O}$ (0); $^{32}_{16}\text{S}$ (0);

O fenômeno de RMN acontece quando a amostra é submetida a um campo magnético externo \vec{B}_0 , ocorrendo uma interação entre os momentos magnéticos dos núcleos ($\vec{\mu}$) com este campo. Essa interação separa os spins, que antes eram degenerados, ou seja, possuíam a mesma energia, em diferentes níveis de energia. O número de orientações possíveis (m) em relação ao campo \vec{B}_0 é dado pela equação: $m = 2I + 1$. Já a energia de cada estado é dada pela Equação 1.²⁸⁻³⁰

$$E = -m_i \frac{(\gamma h B_0)}{2\pi} \quad (1)$$

Onde: γ é a razão magnetogírica (razão entre o momento magnético e o momento angular), uma constante nuclear fundamental, h é a constante de Planck, B_0 é a intensidade do campo magnético externo aplicado e m_i é o número quântico magnético de spin. Os valores que m_i pode assumir são definidos de acordo com a equação a seguir:²⁸⁻³⁰

$$m_i = (-I, -I + 1, \dots, I) \quad (2)$$

Para o núcleo de hidrogênio cujo número de spin é $1/2$, haverá duas orientações possíveis em relação a um campo magnético externo uniforme, α e β (Figura 4). Como $m_i = (-1/2, +1/2)$ a diferença de energia entre os estados é dada pela Equação 3.²⁸⁻³⁰

$$\Delta E = \frac{(\gamma h B_0)}{2\pi} \quad (3)$$

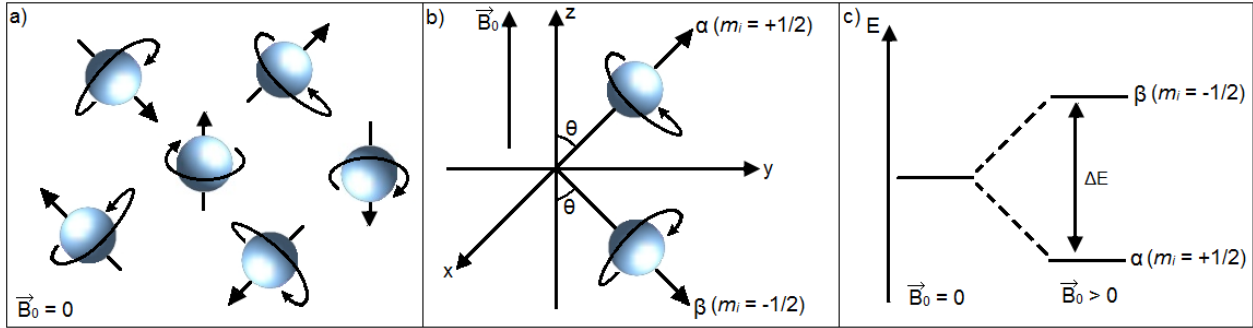


Figura 4. (a) Núcleos de ^1H ocupam estados degenerados; (b) possíveis orientações dos núcleos de ^1H após a aplicação de \vec{B}_0 ; (c) representação da diferença de energia entre tais orientações.

A divisão dos spins nos diferentes níveis energéticos não é arbitrária, segue a distribuição de Boltzmann, que é regida pela Equação 4. A partir desta equação verifica-se que a diferença de população entre os níveis de energia é muito pequena, o que torna a técnica de RMN pouco sensível, e que o excesso de população estará sempre no estado de menor energia, α .²⁸⁻³⁰

$$\frac{N_\alpha}{N_\beta} = e^{\frac{\Delta E}{kT}} \quad (4)$$

Nesta equação: N_α é a população no estado de menor energia, N_β é a população no estado de maior energia, k é a constante de Boltzmann ($1,3806 \cdot 10^{-23} \text{ J/K}$) e T é a temperatura (em Kelvin).

A interação do momento magnético nuclear com o campo magnético externo provoca o movimento de precessão dos spins nucleares em torno do eixo de \vec{B}_0 com uma frequência angular denominada frequência de Larmor (ω_0), em que: $\omega_0 = \gamma B_0$. A precessão é o movimento no qual os spins nucleares entram em rotação ao redor da direção do campo magnético externo. Como existe uma diferença populacional entre os níveis energéticos, haverá uma magnetização resultante (\vec{M}_0), que é a soma vetorial de todos os momentos magnéticos ($\vec{\mu}$) que precessionam em torno de \vec{B}_0 (Figura 5).²⁸⁻³⁰

A equação fundamental da RMN relaciona a frequência de Larmor em Hz (ν_0) com o campo magnético externo e a razão magnetogirica:

$$\nu_0 = \frac{\gamma B_0}{2\pi} \quad (5)$$

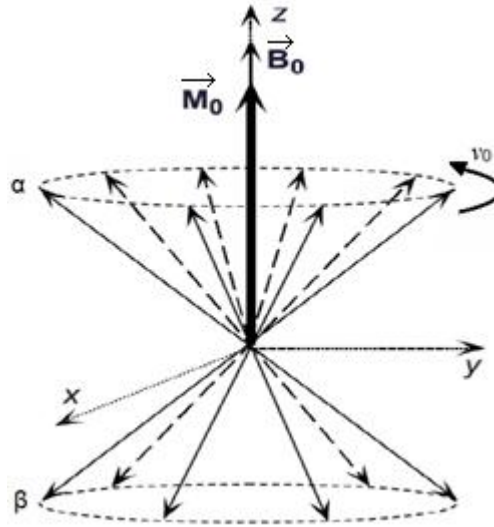


Figura 5. Conjunto de núcleos em movimento de precessão com magnetização resultante \vec{M}_0 na direção do campo magnético externo \vec{B}_0 .

A condição de ressonância ocorre quando se aplica, através de uma bobina, um pulso de curta duração e alta potência com frequência igual à de Larmor (ω_0) que gera um campo magnético oscilante (\vec{B}_1), perpendicular a \vec{B}_0 , e por ressonância os spins absorvem energia, incitando transições simultâneas entre os níveis de energia.^{29,30}

Para visualizar esse resultado faz-se uso do sistema de coordenadas girantes, representadas pelas coordenadas z , x' e y' . Nesse modelo, considera-se que o plano $x'y'$ gira em torno do eixo z , direção de \vec{B}_0 , com frequência de rotação ω_0 , igual a do pulso de radiofrequência aplicado.³⁰

A magnetização resultante \vec{M}_0 é rotacionada para o plano $x'y'$ com um ângulo θ , formado com o eixo z , determinando o aparecimento de uma magnetização nesse plano com componentes $\vec{M}_{x'}$ e $\vec{M}_{y'}$ (Figura 6). O ângulo θ depende do tempo de aplicação do pulso de radiofrequência (t_p) de acordo com a Equação 6. Se t_p for adequado θ será de 90° e toda magnetização será transferida para o plano $x'y'$, situação na qual o máximo de sinal é adquirido.³⁰

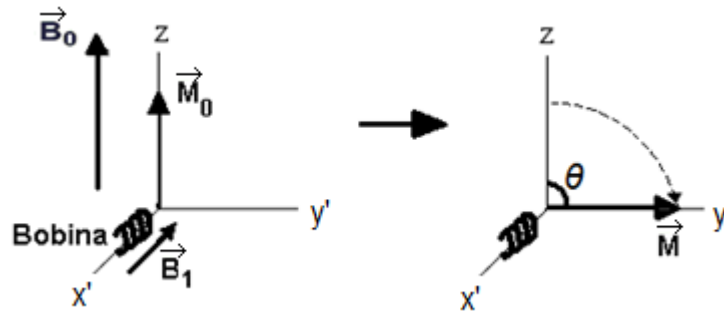


Figura 6. A aplicação do pulso de radiofrequência gera o campo magnético \vec{B}_1 que provoca a transferência da magnetização resultante \vec{M}_0 para o plano $x'y'$.

$$\theta = \gamma B_1 t_p \quad (6)$$

Após a aplicação do pulso os spins excitados voltam ao equilíbrio termodinâmico, em que ocorre a precessão em torno de \vec{B}_0 , induzindo o sinal de RMN na bobina, denominado decaimento livre de indução (FID - Free Induction Decay), que contém todas as frequências espectrais sobrepostas (Figura 7). Para que o sistema de spins retorne ao equilíbrio ($\vec{M}_z = \vec{M}_0$ e $\vec{M}_{x'y'} = 0$) é necessário que ocorram dois processos de relaxação distintos e simultâneos: a relaxação longitudinal (T_1) que recupera a magnetização de equilíbrio ao longo da direção z e a relaxação transversal (T_2) que espalha a magnetização no plano $x'y'$.²⁸⁻³⁰

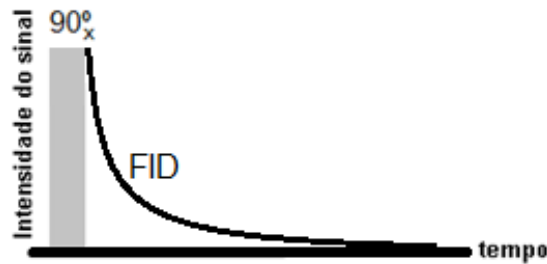


Figura 7. Representação do FID.

1.5.1 Relaxação Longitudinal (T_1)

A relaxação longitudinal é responsável pelo retorno da magnetização paralela ao campo magnético até que $\vec{M}_z = \vec{M}_0$. Esse processo é entálpico, pois envolve perda de energia para o meio e, por isso, também recebe o nome de relaxação spin-rede. O processo de relaxação longitudinal apresenta decaimento exponencial, sendo dominado

pela constante de tempo T_1 . A Equação 7 relaciona a magnitude de \vec{M}_z com T_1 .^{29,30}

$$M_z(t) = M_0 \left(1 - e^{-\frac{t}{T_1}} \right) \quad (7)$$

Uma informação importante obtida dessa equação é que só após um tempo igual a $5T_1$ 99,3% da magnetização retorna ao eixo z. Sendo assim, quando se realiza experimentos em série, esse intervalo deve ser respeitado para evitar que o sinal diminua ao longo das aquisições devido ao efeito de saturação.³⁰

1.5.2 Relaxação Transversal (T_2)

A relaxação transversal é o processo de espalhamento da magnetização no plano $x'y'$ até que ocorra seu total desaparecimento, ou seja, até que $\vec{M}_{x'y'} = 0$. Esse processo é entrópico e pode ser induzido por dois mecanismos: pela interação direta dos momentos magnéticos individuais (interação spin-spin) e, por isso, também é conhecido por relaxação spin-spin; e pela inhomogeneidade do campo magnético que leva núcleos do mesmo tipo a rotacionarem com frequências maiores ou menores do que a frequência de Larmor (ω_0).²⁸ A relaxação transversal também é exponencial, sendo governada pela constante de tempo T_2 .^{28,30} A Equação 8 descreve o processo.¹⁴

$$M_y(t) = M_{xy} \cos(\omega_0 t) e^{-\frac{t}{T_2}} \quad (8)$$

O valor de T_2 de uma amostra será sempre menor que T_1 , visto que, o equilíbrio termodinâmico não pode ser reestabelecido enquanto a magnetização transversa não desaparecer completamente.

Nos experimentos com aplicação da sequência de pulso único, Figura 7, o FID retrata justamente o decaimento de $\vec{M}_{x'y'}$. Entretanto, tais experimentos não são adequados para medidas de T_2 , pois são influenciados por essa constante e pela inhomogeneidade estática do campo magnético (ΔB_0), sendo governados, na verdade, pela constante de tempo T_2^* (Equação 9).^{27,30}

$$\frac{1}{T_2^*} = \frac{1}{T_2} + \gamma \Delta B_0 \quad (9)$$

Para suprimir o efeito da inomogeneidade do campo magnético nas medidas de T_2 por campo pulsado, Hahn (1950) propôs a sequência de spin-eco, que consistia na aplicação de dois pulsos de 90° separados por um intervalo de tempo τ .³¹ Pouco tempo depois, em 1954, essa técnica foi modificada por Carr e Purcell, que substituíram o segundo pulso de 90° por um pulso de 180° (Figura 8).^{32,33}

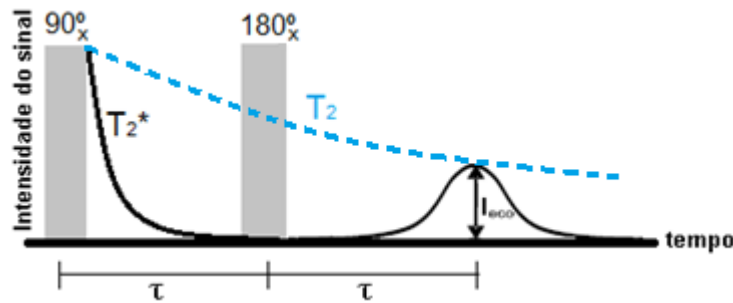


Figura 8. Sequência de pulsos de spin-eco e o sinal obtido (eco).

Nos experimentos com uso da sequência de spin-eco, após o pulso de 90° , o sinal decairá com constante de tempo T_2^* (como na técnica de pulso único) e após o segundo pulso, em um intervalo de tempo τ , será gerado um eco do sinal. Sendo assim, o valor de T_2 seria obtido a partir da curva de decaimento traçada com base na intensidade inicial do FID e nas amplitudes dos ecos gerados quando a sequência é aplicada várias vezes aumentando-se o valor de τ progressivamente (curva tracejada em azul, Figura 8), uma vez que, o aumento progressivo de τ provoca o decréscimo progressivo da intensidade dos ecos. Entretanto, a intensidade do sinal do eco de spin é afetada pelo efeito de difusão molecular devido ao movimento Browniano, que corresponde à energia cinética das moléculas, o que pode inviabilizar as medidas de T_2 em substâncias líquidas, ou em solução, em campos magnéticos inomogêneos.^{31,32} Dessa forma, a intensidade do sinal do eco é descrita pela Equação 10 que leva em consideração o efeito de difusão.

$$I_{eco} = M_0 e^{-\frac{2\tau}{T_2}} e^{-\gamma^2 \left(\frac{\partial B}{\partial z}\right)^2 D \frac{2\tau^3}{3}} \quad (10)$$

Onde: D é o coeficiente de difusão da molécula.

A Figura 9 demonstra vetorialmente o que ocorre com a magnetização durante a aplicação da sequência de spin-eco.³⁰

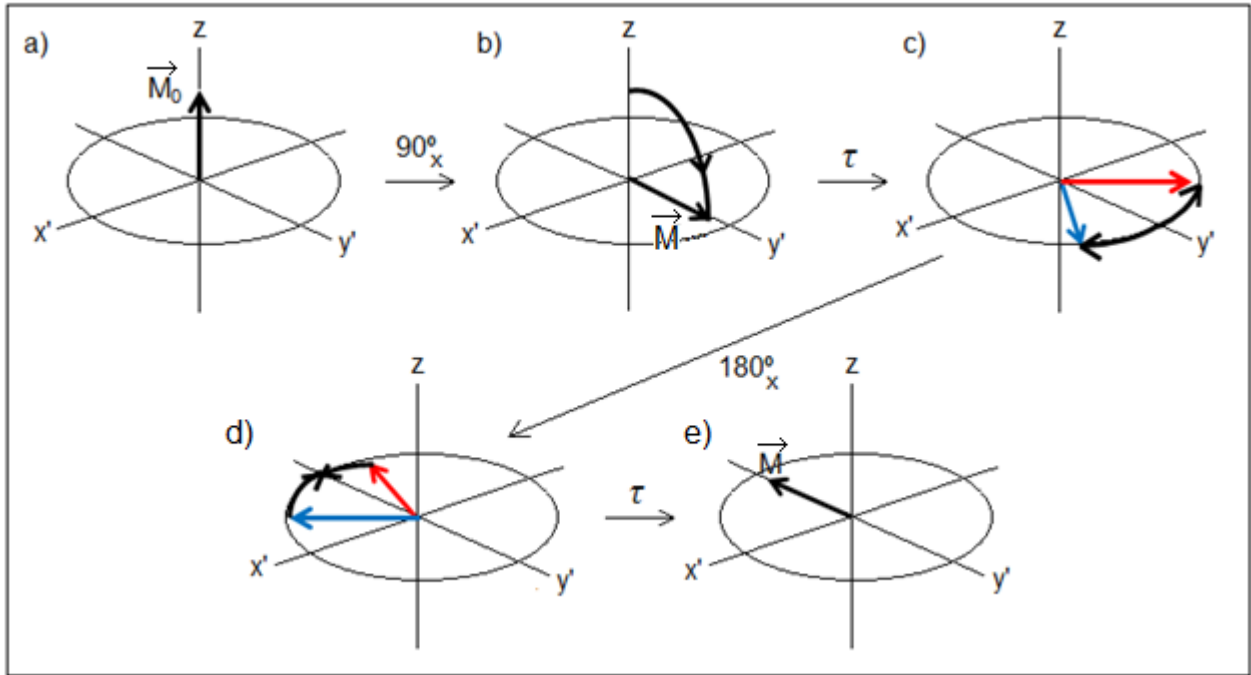


Figura 9. Representação vetorial da sequência de pulsos de spin-eco.

Na Figura 9, temos que: (a) a magnetização se encontra no equilíbrio térmico; (b) após a aplicação do pulso de 90° em x' a magnetização é deslocada para o plano $x'y'$; (c) durante o intervalo de tempo τ a magnetização se defasa no plano $x'y'$; (d) ao final do tempo τ aplica-se o pulso de 180° em x' ; (e) durante o novo intervalo τ , ocorre a refocalização da magnetização no eixo y' , gerando o eco do sinal. Conforme pode ser verificado, o eco do sinal é defasado em 180° em relação ao FID, portanto a representação do eco na Figura 8 está rotacionada em 180° .

Na aplicação da sequência de CPMG (*Carr–Purcell–Meiboom–Gill*),³⁴ a inhomogeneidade do campo magnético não interfere na análise e o efeito de difusão pode ser desprezível com o uso de valores de τ suficientemente pequenos, dessa forma, o sinal de decaimento está relacionado ao tempo de relaxação transversal (T_2). Por isso, essa é a sequência usualmente utilizada para obtenção de T_2 . Nesta técnica,

após o pulso de 90° e um intervalo de tempo τ são aplicados n pulsos de 180° , separados por 2τ . Assim, como na técnica de spin-eco, após o pulso de 90° , o sinal decairá com constante de tempo T_2^* e após os pulsos de 180° serão gerados ecos do sinal, onde cada eco é separado do pulso que o antecedeu por um intervalo de tempo τ . O sinal de decaimento na técnica de CPMG, que é governado por T_2 , está relacionado ao decréscimo progressivo de intensidade dos ecos (Figura 10).^{34,35}

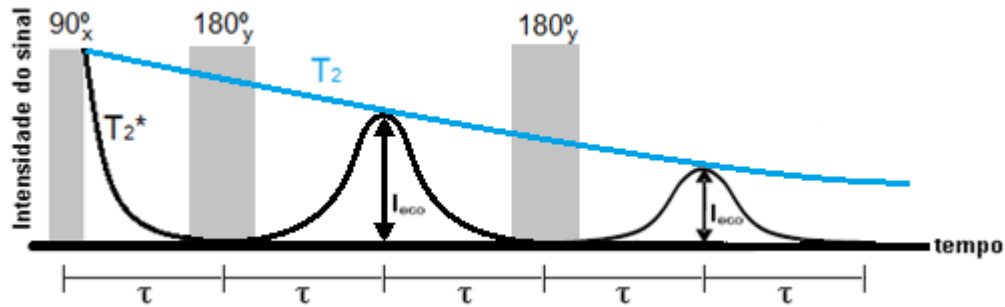


Figura 10. Sequência de pulsos de CPMG e o sinal de decaimento obtido, curva em azul.

A Equação 11 demonstra a dependência das amplitudes dos sinais dos ecos (I_{eco}) com τ , M_0 (intensidade do sinal no equilíbrio térmico) e T_2 .³⁵

$$I_{eco} = M_0 e^{-\frac{2\tau}{T_2}} \quad (11)$$

A Figura 11 representa vetorialmente o que ocorre com a magnetização durante a aplicação da sequência de CPMG.³⁰ O processo descrito é o seguinte: (a) a magnetização se encontra no equilíbrio térmico; (b) após a aplicação do pulso de 90° em x' a magnetização é deslocada para o plano $x'y'$; (c) durante o intervalo de tempo τ a magnetização se defasa no plano $x'y'$; (d) ao final do tempo τ aplica-se o primeiro pulso de 180° em y' ; (e) durante o novo intervalo τ , ocorre a refocalização da magnetização no eixo y' , gerando o eco do sinal; (f) a magnetização volta a defasar no plano $x'y'$ iniciando um novo ciclo da sequência de pulsos.

Na aplicação da sequência de CPMG foi observado que erros de calibração do pulso de 180° fazem com que a primeira refocalização da magnetização no plano $x'y'$ não seja apropriada, há um desvio da magnetização para o plano transversal. Observou-se também que o segundo pulso de 180° corrige o erro de desvio do primeiro

pulso, ou seja, a refocalização da magnetização para gerar o segundo eco do sinal é adequada. Desse modo, todos os ecos pares têm amplitudes corretas, já os ímpares podem apresentar amplitudes reduzidas, mas não acumulativas.²⁹ Sendo assim, quando se utiliza a sequência de CPMG é interessante que sejam selecionados apenas os ecos pares, pois estes não são afetados por erros na calibração dos pulsos.

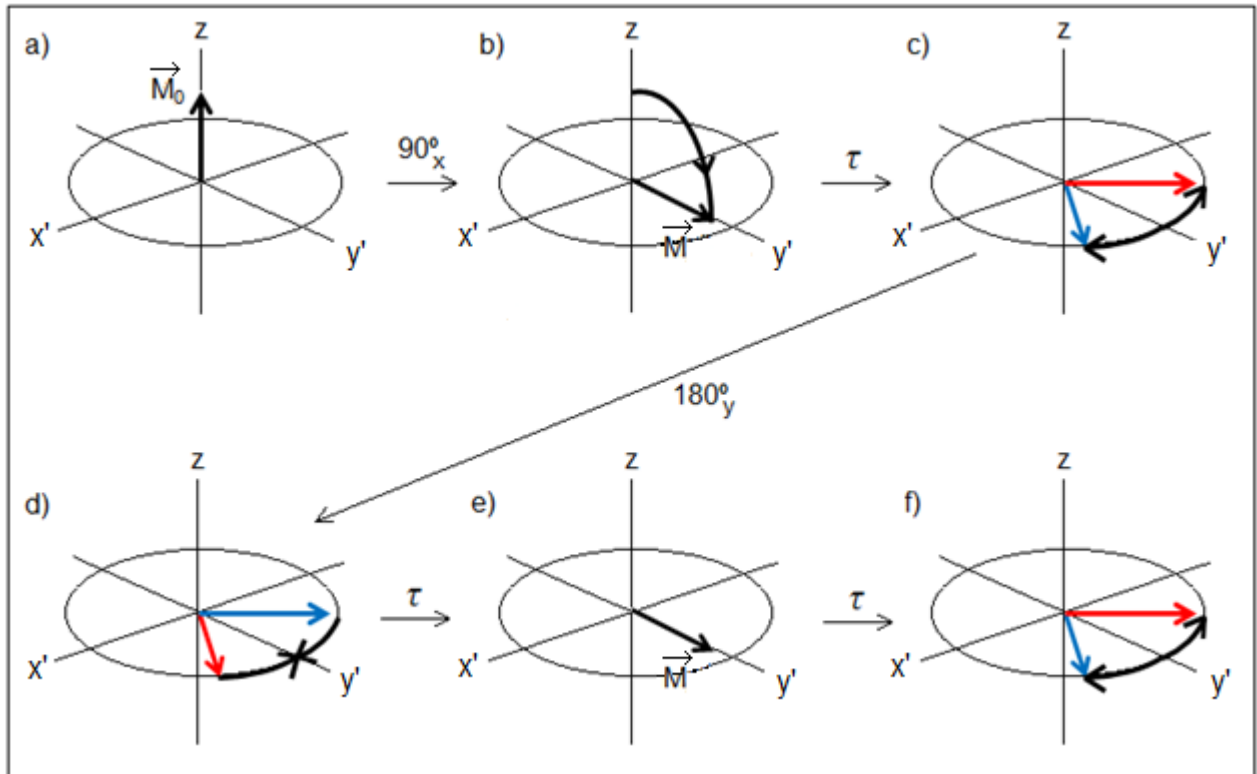


Figura 11. Representação vetorial da sequência de pulsos de CPMG.

1.5.3 CWFP e CP-CWFP

Os experimentos de CWFP (*Continuous Wave Free Precession*) consistem na aplicação de n pulsos de 90° separados por um intervalo de tempo τ (Figura 12). Tais experimentos dependem dos dois tempos de relaxação, longitudinal e transversal (T_1 e T_2 , respectivamente), e eles são caracterizados por atingirem um estado estacionário após alguns milissegundos, dessa forma, a amplitude do sinal não decai a zero (Figura 13).^{14,36-39}

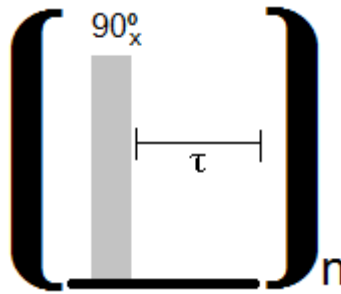


Figura 12. Sequência de pulsos da técnica de CWFP.

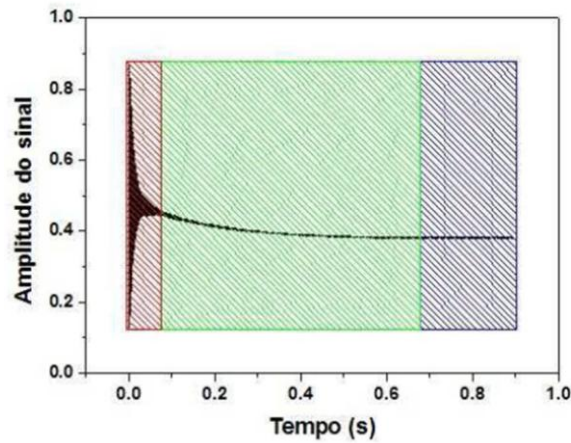


Figura 13. Sinal de CWFP de uma amostra de ácido fosfórico (RMN de ^1H).^{14,35}

Na Figura 13, a região em que a amplitude do sinal permanece constante (região de estado estacionário) é representada pela cor azul e ela é precedida por dois regimes transientes. No primeiro regime (vermelho) há uma alternância da amplitude do sinal entre pulsos ímpares e pares e o decaimento do sinal nesta etapa é dependente de T_2^* . O regime representado pela cor verde é o estado quase estacionário, onde, inicialmente, o sinal assume uma intensidade intermediária ao da fase de alternâncias e começa a decair até atingir o estado estacionário. O estado quase estacionário é governado pela constante T^* que depende de T_1 e T_2 de acordo com a Equação 12. O estado estacionário também depende das constantes de relaxação longitudinal e transversal.^{14,36-39}

$$T^* = \frac{2T_1T_2}{(T_1 + T_2)} \quad (12)$$

A Equação 13 correlaciona a intensidade do sinal no estado estacionário com T_1

e T_2 . Nesta equação M_{EE} é a intensidade do sinal no estado estacionário.^{14,36-39}

$$M_{EE} = \frac{M_0 T_2}{(T_1 + T_2)} \quad (13)$$

O sinal de CWFP é uma combinação das componentes do FID e eco de spin, que estão sempre defasados em 180° . Dependendo do ângulo de precessão (Ψ), ângulo formado entre a projeção da magnetização no plano $x'y'$ e o eixo y' , essa combinação pode apresentar uma interferência construtiva ou destrutiva entre as componentes. Uma interferência construtiva leva ao máximo de sinal, enquanto uma interferência destrutiva resulta em um sinal nulo. Quando o ângulo de precessão Ψ é múltiplo ímpar de π (Equação 14), a interferência é construtiva. Já quando o ângulo Ψ é múltiplo par de π a interferência entre o FID e o eco é destrutiva. Na Equação 14, n é um número inteiro, $\Delta\omega$ é a frequência de offset em rad.s^{-1} e τ é o tempo entre os pulsos.^{14,36-39}

$$\Psi = (2n + 1)\pi = \Delta\omega \cdot \tau \quad (14)$$

A frequência de offset representa a diferença entre a frequência de precessão do núcleo (ω) e a frequência do referencial rotativo (ω_0). Ou seja:

$$\Delta\omega = (\omega - \omega_0) \quad (15)$$

As grandes vantagens do uso de CWFP em relação às outras técnicas são devidas às análises ultrarrápidas, podendo-se acumular vários sinais em intervalos de tempo muito curtos. O curto período de aquisição do sinal permite o uso desta técnica em análises on-line.^{14,36-39}

A sequência de CP-CWFP (Figura 14) é baseada na sequência de spin-eco proposta por Carr-Purcell (CP) e na sequência de CWFP. Sendo assim, o sinal CP-CWFP (Figura 15) apresenta diferenças e semelhanças com o sinal CWFP. Na Figura 15, após a alternância de amplitude entre pulsos ímpares e pares (regime em vermelho), o sinal CP-CWFP atinge um valor mínimo e não intermediário. Depois de

alcançar esse valor mínimo a intensidade do sinal começa a aumentar, passando pelo estado quase estacionário (região em verde), que também é governado por T^* , até atingir o estado estacionário (representado por azul).^{33,39}

As Equações 12 e 13 também são válidas quando se aplica a sequência de CP-CWFP e o ajuste do ângulo de defasagem deve ser realizado para garantir o máximo de sinal.^{33,39}

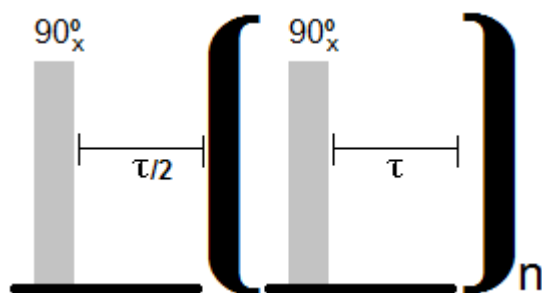


Figura 14. Sequência de pulsos da técnica de CP-CWFP.

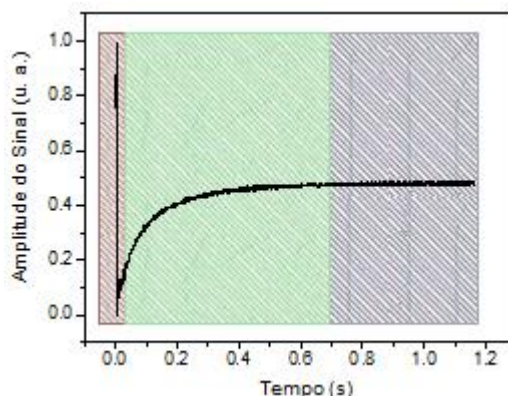


Figura 15. Sinal de CP-CWFP de uma amostra de óleo de milho (RMN de ^1H).

A aplicação da sequência de CP-CWFP é mais vantajosa para amostras com $T_1 \sim T_2$, como é o caso de óleos vegetais analisados em baixos campos magnéticos.³⁹ Nesses casos, como se pode notar, a amplitude do sinal no EQE varia muito pouco quando a sequência de CWFP é aplicada. Sendo assim, é necessária uma alta razão sinal/ruído para realizar um bom ajuste exponencial para obtenção de T^* . Já quando se aplica CP-CWFP, a amplitude no EQE é máxima. Portanto, a dependência do ajuste exponencial, para obtenção de T^* , com a razão sinal/ruído torna-se menor.³³

1.6 RMN de Baixo Campo e o Teor de Óleo em Sementes

A técnica de RMN tem sido utilizada em várias áreas da ciência, entretanto, a maioria dos experimentos se baseia nas diferenças de deslocamento químico e acoplamentos atômicos, que são relacionadas às características estruturais do sistema. Esses experimentos são realizados em equipamentos de alta resolução através da aplicação da Transformada de Fourier no FID, trabalhando com o sinal no domínio da frequência.^{40,41}

Já a RMN de baixo campo possui resolução e sensibilidade muito inferiores à técnica de alta resolução, porém, tem se difundido no meio acadêmico. A técnica utiliza um campo magnético inferior, não ultrapassa 2 T, não muito homogêneo, e a grande vantagem está na portabilidade, baixo custo e manutenção. Os estudos ocorrem em um nível dimensional maior, onde o tamanho molecular e suas interações físico-químicas são analisados a partir dos fenômenos de relaxação.^{40,41}

A baixa sensibilidade da técnica de RMN de baixo campo é relacionada à pequena diferença populacional existente entre os níveis energéticos, o que acarreta na baixa relação sinal/ruído.^{15,16} Esses fatores são determinantes para permitir que a técnica só seja realizada em análises de núcleos com alta abundância isotópica e alta razão magnetogírica, como ^1H , ^{19}F e ^{31}P , além de ser necessária uma grande quantidade de amostra.⁴⁰

Como a RMN é uma técnica comparativa, é necessário fazer uma curva analítica entre a intensidade do sinal de RMN, ou do eco, e a concentração de amostras padrões, visto que esses parâmetros apresentam uma relação linear. Com a curva analítica, exemplificada na Figura 16, e a partir da equação matemática que rege a mesma, obtém-se a concentração de uma substância em uma amostra desconhecida somente com a medida da amplitude do seu sinal de RMN.²⁵

Para a determinação da presença de apenas um dos componentes de uma amostra heterogênea, como a do teor de óleo em sementes, é necessário discriminar os vários constituintes da amostra que contém hidrogênio, baseando-se nas diferenças

de seus tempos de relaxação transversal (T_2), para que se obtenha somente a intensidade do sinal do óleo. A Figura 17 apresenta um diagrama de como usar as diferenças de tempo de relaxação para separar o sinal do óleo dos outros principais constituintes das sementes que contêm hidrogênio, que são as proteínas, os carboidratos e a água.^{25,27,37,42}

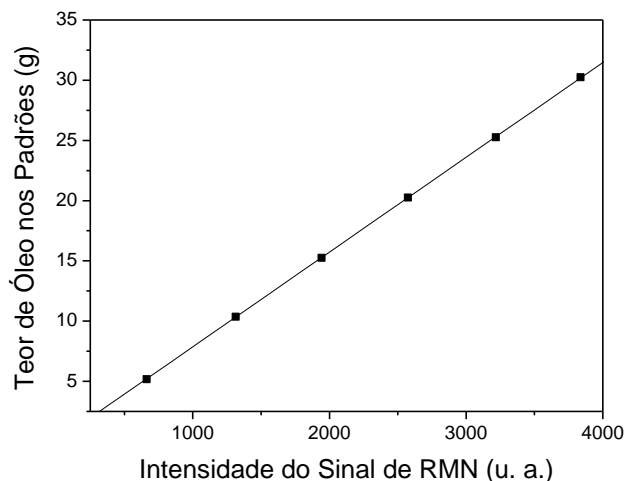


Figura 16. Relação linear entre o sinal de RMN de ^1H e o teor de óleo em sementes.

Os sinais dos materiais sólidos, proteínas e carboidratos, ou de baixa mobilidade, como a água de hidratação, apresentam tempo de relaxação curto, alguns microssegundos, decaindo rapidamente. Já os da água livre e do óleo apresentam T_2 longo, alguns milissegundos, decaindo mais lentamente. Assim, para analisar os componentes líquidos mede-se a intensidade do sinal de decaimento após o completo decaimento do sinal dos sólidos.^{28,30,40,41}

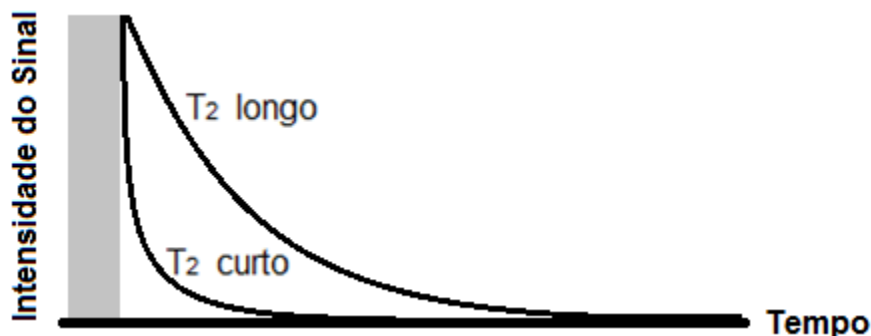


Figura 17. Decaimento do sinal de RMN de ^1H com T_2 curto, como de proteínas, carboidratos e água de hidratação, e decaimento com T_2 mais longo, como água livre e óleo em sementes.

O sinal da água livre é eliminado secando-se completamente as sementes ou com desidratação parcial em torno de 5% de umidade, onde a contribuição da água pode ser desconsiderada. Com isso, só o óleo contribui para o sinal de RMN após alguns milissegundos.^{25,27,37} Neste ponto, as sequências de CPMG e spin-eco apresentam uma vantagem em relação às outras, pulso único e CWFP, uma vez que, o teor de umidade não contribui para o sinal de RMN quando se aplica CPMG e spin-eco, dependendo das condições experimentais, tornando a etapa de desidratação desnecessária. Para que isso seja possível o valor de τ deve ser apropriado para permitir o completo decaimento do sinal da água antes da detecção do sinal do óleo e suficientemente pequeno para minimizar o efeito de difusão.²⁷

1.7 Análises Quimiométricas

A quimiometria consiste no emprego de métodos matemáticos e estatísticos em um conjunto de dados multivariados para obtenção do máximo de informação química possível. O processo permite uma simplificação do conjunto de dados, no sentido de comprimir o espaço dimensional a que estão confinados, possibilitando, assim, uma melhor compreensão e interpretação dos mesmos.⁴³

Os métodos quimiométricos podem ser aplicados em um conjunto de dados com propósitos qualitativos (análise exploratória e reconhecimento de padrões) e quantitativos (calibração). A análise de componentes principais (*Principal Component Analysis* – PCA) e a análise de agrupamentos hierárquicos (*Hierarchical Cluster Analysis* – HCA) são os métodos mais utilizados em estudos exploratórios.

1.7.1 Análise de Agrupamentos Hierárquicos

Na técnica de HCA, cada amostra é considerada um ponto no espaço multidimensional descrito pelas variáveis escolhidas. No tratamento matemático são avaliadas as similaridades entre as amostras medindo-se as distâncias de um ponto ao outro. As amostras com menores distâncias entre si são, então, colocadas em um mesmo grupo. Os resultados dos agrupamentos são exibidos em um gráfico bidimensional chamado de dendograma, na qual é possível identificar as correlações e

similaridades entre as amostras.⁴⁴

Dentre as possíveis maneiras de se calcular a distância entre dois pontos, a distância euclidiana é a mais conhecida e utilizada (Equação 16). No cálculo, a distância entre duas amostras (i e j) é dada pela raiz quadrada do somatório dos quadrados das diferenças entre os valores de i e j para todas as variáveis ($v = 1, 2, 3, \dots, p$). Em alguns casos também se utiliza o quadrado da distância euclidiana, onde esse valor é dado pela Equação 17.^{44,45}

$$d_{ij} = \sqrt{\sum_{v=1}^p (x_{iv} - x_{jv})^2} \quad (16)$$

$$d_{ij} = \sum_{v=1}^p (x_{iv} - x_{jv})^2 \quad (17)$$

Após o cálculo das distâncias entre as amostras elas são agrupadas de acordo com o método escolhido. Os métodos mais utilizados são: do vizinho mais próximo (ou *single*); do vizinho mais distante (ou *complete*); da distância média (ou *average*); e o método de Ward.

A conexão pelo método do vizinho mais próximo se inicia agrupando-se as duas amostras com maior similaridade (ou menor distância). A partir daí, a matriz de similaridade vai sendo continuamente atualizada, sempre procurando as menores distâncias entre grupos e aproximando as amostras mais similares. Dessa forma, a próxima amostra pode ser adicionada a um grupo já existente ou é levada a iniciar a formação de um novo grupo com outra amostra. O processo termina quando todas as amostras são adicionadas e estão conectadas de acordo com suas similaridades formando um único agrupamento.⁴⁵

A Figura 18a exemplifica um processo de agrupamento pelo método dos vizinhos mais próximos: inicialmente as amostras 1 e 2 foram conectadas, por possuírem a maior similaridade, formando o grupo G_A ; a próxima conexão é realizada levando-se em consideração a distância entre as amostras 3 e 4 (d_3), a menor distância entre a amostra 3 e G_A (d_1) e a menor distância entre a amostra 4 e G_A (d_2); sendo assim, a

menor dessas três distâncias daria a próxima conexão.

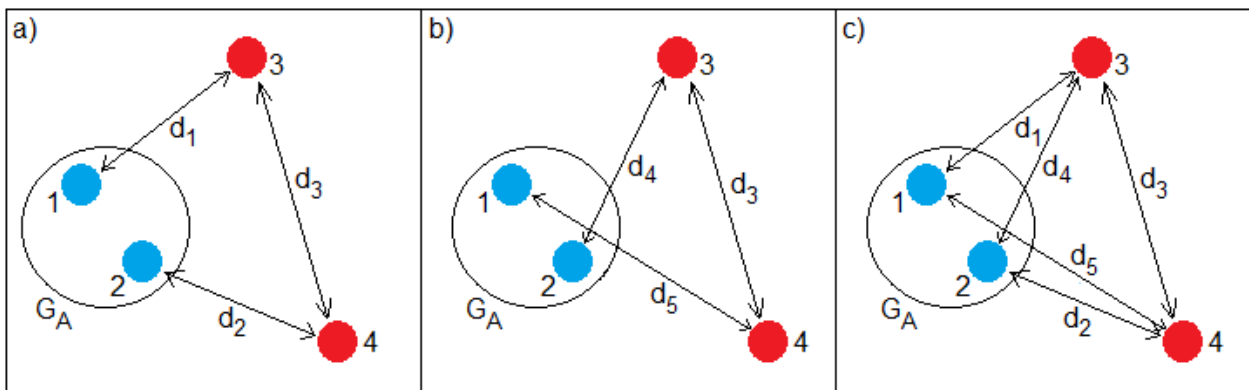


Figura 18. Métodos de agrupamentos hierárquicos: a) do vizinho mais próximo; b) do vizinho mais distante; c) da distância média.

Pelo método do vizinho mais distante, após o agrupamento inicial das duas amostras mais similares, calcula-se as maiores distâncias entre dois grupos e, dentre elas, o agrupamento vai ocorrendo com os pares de maior similaridade (menores distâncias).⁴⁵ A Figura 18b exibe um exemplo desse método: inicialmente as amostras 1 e 2 foram conectadas, por possuírem a maior similaridade, formando o grupo G_A ; a próxima conexão é realizada levando-se em consideração a distância entre as amostras 3 e 4 (d_3), a maior distância entre a amostra 3 e G_A (d_4) e a maior distância entre a amostra 4 e G_A (d_5); dessa forma, a menor dessas três distâncias definiria a próxima conexão.

O método da distância média é semelhante aos anteriores, embora a distância entre dois grupos se defina como a média da distância entre todos os pares de objetos, onde cada membro de um par provém de cada um dos grupos. Nesse método são utilizadas informações sobre todos os pares de distâncias, e não apenas da distância mínima ou máxima.⁴⁵ Existem dois procedimentos neste método, diferenciando-se por uma média aritmética ou ponderada. Na média aritmética a distância entre cada *cluster* tem o mesmo peso, na segunda opção o coeficiente de ponderação é correspondente ao número de elementos entre cada *cluster*.

A Figura 18c exemplifica um caso de aplicação da distância média: inicialmente as amostras 1 e 2 foram conectadas, por possuírem a maior similaridade, formando o

cluster G_A ; a próxima conexão é realizada levando-se em consideração a distância entre as amostras 3 e 4 (d_3), a média das distâncias entre a amostra 3 e G_A (d_1 e d_4) e a média das distâncias entre a amostra 4 e G_A (d_2 e d_5); sendo assim, a menor dessas três distâncias definiria a próxima conexão.

Dentre os métodos de aglomeração, está o de Ward, onde um grupo será reunido a outro se essa reunião proporcionar o menor aumento da variância intragrupo. Este método de variância calcula as médias de todas as variáveis para cada grupo. Em seguida, calcula-se o quadrado da distância euclidiana entre essas médias e os valores das variáveis para cada indivíduo. As distâncias de todos os indivíduos são, então, somadas. Assim, em cada estágio, combinam-se os dois grupos que apresentarem menor aumento na soma global de quadrados das distâncias. Este método é altamente eficiente na formação de grupos.⁴⁵

A escolha do método de agrupamento e a escolha de uma medida de distância estão inter-relacionadas. Quando se utiliza o método de Ward ou da distância média, por exemplo, é interessante utilizar o quadrado da distância euclidiana.⁴⁵

1.7.2 Análise de Componentes Principais

A PCA é uma técnica estatística de análise multivariada que possibilita investigações com um grande número de dados disponíveis. A análise tem por objetivo reduzir o número de variáveis que descrevem as amostras para apresentar as similaridades e diferenças entre elas. O método é considerado fatorial, pois a redução do número de variáveis não se faz por uma simples seleção de algumas variáveis, mas pela construção de novas variáveis sintéticas, obtidas pela combinação linear das variáveis iniciais, por meio dos fatores.⁴⁶

A transformação em outro conjunto de variáveis ocorre com a menor perda de informação possível, sendo que também se busca eliminar algumas variáveis originais que possuam pouca informação. Essa redução de variáveis só será possível se as p variáveis iniciais não forem independentes e possuírem coeficientes de correlação não nulos.⁴⁶ No novo conjunto de variáveis são estabelecidas as componentes principais

(PC's – *Principal Components*) que apresentam dimensões equivalentes e são ortogonais entre si, ou seja, são independentes. As PC's possibilitam a identificação das medidas responsáveis pelas maiores variações entre os resultados, condensando as informações mais importantes nas primeiras PC's e as menos proeminentes nos últimos PC's. Dessa maneira reduz-se a quantidade de informações dos dados utilizando apenas os primeiros PC's e não todo o conjunto de dados.⁴⁴

Inicialmente, para a geração das componentes principais, deve-se ter uma matriz X de dimensão $m \times n$, na qual n representa as variáveis de cada uma das m unidades experimentais, as amostras. A PCA então decompõe a matriz de dados originais X em duas outras matrizes, S e L . A matriz de escores S é uma matriz ortogonal de autovetores das linhas da matriz X e a matriz de pesos L é uma matriz ortogonal de coeficientes.^{43,44}

Os escores estão relacionados com a posição ocupada pelas amostras nos novos eixos e, a informação do quanto cada variável original contribui para a formação de cada novo eixo, está contida nos pesos. Os escores expressam as relações entre as amostras enquanto que os pesos mostram as relações entre as variáveis originais.^{43,44}

Devido à impossibilidade da visualização de todos os dados da matriz S , são utilizados apenas os dados que contém maior variância, ou seja, os primeiros PC's, gerando gráficos bidimensionais entre os dados de PC_1 e PC_2 , ou PC_1 e PC_3 , ou PC_2 e PC_3 , e etc.⁴³

Antes de aplicar a técnica de PCA, pode ser necessário um pré-processamento dos dados, com o objetivo de adequar as amostras do conjunto de maneira a maximizar ou minimizar o efeito de certas variáveis no todo. É o caso, por exemplo, de variáveis medidas em diferentes unidades, com diferentes magnitudes. Outra circunstância onde se faz necessário tratar os dados seria no caso destes conterem informações correlacionadas, como ocorre, por exemplo, no caso de dados espectroscópicos.^{44,47,48}

A centralização dos dados na média é convenientemente usada quando todas as variáveis forem medidas numa mesma unidade, possuindo uma mesma magnitude,

como acontece normalmente no caso da espectroscopia. Esse tipo de pré-processamento permite que a presença de ruídos não afete negativamente na análise.⁴⁷

Existe também o autoescalamento, que é feito pela centralização dos dados na média e posterior divisão pelo desvio padrão. As variáveis terão dessa forma média zero e um desvio padrão igual a um. Este método é utilizado quando se pretende dar o mesmo peso a todas as variáveis medidas, já que a PCA, por ser um método de quadrados mínimos, faz com que variáveis com alta variância possuam altos pesos.^{44,47,48}

Na prática, para fazer uma análise de componentes principais, antes de decompor a matriz X , calcula-se inicialmente a matriz de covariância, C , para dados centrados na média, ou a matriz de correlação, R , para dados autoescalados. Ambas as matrizes são quadradas de ordem $n \times n$ (onde n é o número de variáveis) e simétricas em relação à diagonal principal. São essas matrizes que são decompostas nas matrizes S e L .⁴⁸

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivos Gerais

Correlacionar o método de extração por solvente com distintos experimentos de RMN de ^1H de baixa resolução e em seguida analisar o teor de óleo de diferentes matrizes oleaginosas por estes mesmos experimentos. Além disso, pretende-se avaliar a qualidade dos óleos por meio de métodos quimiométricos com base nos dados gerados por RMN.

2.2 Objetivos Específicos

I. Construir as curvas analíticas para cada matriz oleaginosa estudada, referentes a cada sequência de pulsos aplicada – pulso único, spin-eco, CPMG e CWFP.

II. Verificar o teor de lipídeos das amostras de sementes por RMN antes e depois de extrair o óleo pelo método de extração por solvente.

III. Calcular os rendimentos das extrações dos lipídeos das amostras pelos dois métodos, RMN e extração por solvente, e comparar os valores encontrados.

IV. Avaliar se o processo de desidratação é necessário quando se aplica as sequências de spin-eco e CPMG para análise do teor de lipídeos.

V. Relacionar os valores de tempos de relaxação transversal (T_2) dos óleos, obtidos por CPMG, com os parâmetros de qualidade dos biodieseis sintetizados a partir deles.

VI. Dividir as matrizes oleaginosas em grupos, de acordo com suas qualidades para produção de biodiesel, a partir dos métodos quimiométricos de HCA e PCA e dos dados gerados por CPMG.

VII. Comparar os resultados obtidos por CWFP e CP-CWFP das análises das amostras de óleos vegetais.

VIII. Obter os valores de T_1 e T_2 dos óleos através de um único experimento de CWFP ou CP-CWFP.

IX. Comparar os valores de T_2 encontrados por CPMG com os obtidos por CWFP e CP-CWFP.

X. Utilizar os dados adquiridos por CWFP e CP-CWFP em análises quimiométricas de HCA e PCA.

:

3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

A Tabela 3 apresenta as matrizes oleaginosas selecionadas para estudo com a indicação dos respectivos experimentos realizados com as mesmas – determinação do teor e da qualidade dos óleos vegetais presentes nas sementes ou só avaliação da qualidade. Os experimentos para avaliação da qualidade dos óleos vegetais foram realizados de duas maneiras: com amostras do próprio óleo e com amostras de sementes intactas. Vale ressaltar que o universo de matrizes utilizados nesses dois processos é semelhante, mas não é o mesmo.

Tabela 3. Sementes oleaginosas selecionadas para estudo.

Nomes Vulgares	Nomes Científicos	Estudo do Teor de Óleo	Estudo da Qualidade do Óleo ^a	Estudo da Qualidade do Óleo ^b
Amendoim	<i>Arachis hypogaea</i> L.	X	X	X
Babaçu	<i>Orbignya speciosa</i>		X	
Café	<i>Coffea arábica</i>			X
Canola	<i>Brassica napus</i> L.		X	X
Crambe	<i>Crambe abyssinica</i>			X
Cutieira	<i>Joannesia princeps</i> Vell	X	X	X
Dendê	<i>Elaes guineensis</i>		X	X
Girassol	<i>Helianthus annuus</i> L.	X	X	X
Linhaça	<i>Linum usitatissimum</i>		X	X
Mamona	<i>Ricinus communis</i> L.		X	X
Milho	<i>Zea mays</i> L.		X	
Moringa	<i>Moringa oleifera</i>			X
Munguba	<i>Pachira aquatica</i> Aubl.		X	X
Nabo Forrageiro	<i>Raphanus sativus</i> L.	X	X	X
Nogueira de Iguape	<i>Aleurites moluccana</i> L. Wild.		X	
Pinhão Manso	<i>Jatropha curcas</i> L.	X	X	X
Soja	<i>Glucine max</i>	X	X	X
Tungue	<i>Aleurites fordii</i>		X	

^a Amostras de óleos vegetais.

^b Amostras de sementes intactas.

3.1 Determinação do Teor de Lipídeos das Sementes Oleaginosas

O equipamento de RMN de baixo campo utilizado nas etapas de análise foi o MARAN Ultra – 2, da Oxford Instruments, que opera a 52 mT (2,2 MHz para ¹H) e é conduzido por uma sonda de 51 mm de diâmetro. A temperatura de medida foi igual a 27,5 ± 0,5 °C. Tal equipamento está instalado no NCQP do DQUI/UFES. As sequências de pulsos utilizadas para análise foram as de pulso único (90°), spin-eco, CPMG e CWFP. O sistema foi controlado pelo software RINMR da Oxford Instruments. A Figura 19 exhibe o equipamento empregado nos experimentos.



Figura 19. Foto do Maran Ultra – 2 da Oxford Instruments.

Em todas as etapas de análise nas quais se utilizaram as sequências de pulso único, spin-eco e CPMG, foram somados 32 transientes, com tempo de repetição de 2 s. Quando se aplicou pulso único, foram selecionados 4096 pontos da curva de decaimento do sinal (FID), com tempo de amostragem de 2 μ s, totalizando um tempo de aquisição de 8,2 ms. Para as análises por CPMG utilizou-se um tempo τ de 100 μ s, foram realizadas aquisições apenas dos ecos pares e adquiriu-se um ponto por eco em um total de 2048 ecos. Nas análises por spin-eco, τ também foi de 100 μ s e foram adquiridos 32 pontos do eco, com tempo de amostragem de 0,5 μ s, totalizando um tempo de aquisição de 16 μ s.

As análises com a sequência CWFP foram realizadas com um trem de 4096 pulsos separados por um tempo τ de 300 μ s. Utilizou-se uma frequência de offset de 5 kHz equivalente a um ângulo de precessão (Ψ) de 3π e apenas uma aquisição foi realizada.

Primeiramente, para determinação do teor de óleo das matrizes, construíram-se quatro curvas analíticas para cada oleaginosa estudada, uma para cada sequência de pulsos aplicada, com amostras padrões do óleo vegetal. Na construção das curvas analíticas com uso de pulso único, relacionou-se a massa de óleo com a amplitude inicial da curva de decaimento do sinal de RMN de ^1H , sendo coletados os valores de intensidade dos 16 pontos iniciais do FID e calculando-se uma média dos mesmos.

As curvas analíticas obtidas a partir da aplicação de CPMG relacionaram a massa de óleo com a média de intensidade dos 16 primeiros ecos gerados. Já com a aplicação de spin-eco, a massa de óleo foi relacionada com a média de intensidade dos

16 primeiros pontos do eco. Quando a sequência de CWFP foi utilizada, correlacionou-se, na curva analítica, a massa de óleo com a média de intensidade dos 16 últimos pontos da curva de decaimento do sinal (região de estado estacionário).

Após a construção das curvas analíticas, sementes de cada matriz foram cortadas ou trituradas (dependendo do tamanho das sementes), para formar três amostras para cada matriz, com aproximadamente 30 g cada uma. Então, tais amostras foram analisadas utilizando-se as sequências de CPMG e spin-eco, depois foram desidratadas em estufa a 100° C por 1 h. Em seguida, as amostras foram analisadas por pulso único, spin-eco, CPMG e CWFP. As análises por CPMG e spin-eco antes do processo de desidratação foram realizadas para investigar se esta etapa do processo é realmente necessária quando se aplicam essas sequências.

A extração do óleo das amostras ocorreu em sistema soxhlet sendo utilizado hexano como solvente extrator. O sistema ficou sob refluxo durante 48 h e, depois de resfriado, o material vegetal foi colocado para secar. A solução extratora resultante foi seca com sulfato de sódio anidro para eliminar os vestígios de água livre. Após filtrar a solução, o solvente foi removido no evaporador rotatório e a massa de óleo extraída foi devidamente pesada.

Depois de secas, as amostras de sementes foram novamente analisadas a partir das sequências de pulso único, spin-eco, CPMG e CWFP. As análises por RMN de ^1H do teor de óleo das amostras de sementes, pré e pós-extração dos lipídeos, permitiram calcular o rendimento do processo de extração por este método, para comparação com o método clássico de extração por solvente.

Para determinar o teor de óleo das sementes por RMN de baixo campo de ^1H foram utilizados os mesmos dados gerados na análise das sementes antes do processo de extração por soxhlet.

3.2 Avaliação da Qualidade dos Lipídeos Presentes nas Sementes Oleaginosas

No processo de avaliação da qualidade dos óleos das matrizes como matéria-prima para produção de biodiesel, aproximadamente 30 g de óleo vegetal de cada

matriz foram analisados no MARAN por CPMG em triplicata, utilizando os mesmos parâmetros da etapa de determinação do teor de óleo. Os valores de T_2 das amostras foram obtidos a partir de um ajuste monoexponencial da curva de decaimento média.

3.2.1 Relação entre T_2 e Parâmetros de Qualidade de Biodiesel

Para comprovar a relação existente entre os valores de T_2 de óleos vegetais com seus respectivos valores de viscosidade, as viscosidades cinemáticas de cinco óleos vegetais – amendoim, cutieira, girassol, nabo forrageiro e soja – foram obtidas pelo método ASTM D 7042 a 20° C no Labpetro, DQUI, UFES.

Os valores de viscosidade (μ), índice de cetano (CN) e índice de iodo (IN) dos biodieseis produzidos a partir dos óleos vegetais também podem ser correlacionados aos valores de T_2 dos óleos. Sendo assim, esses parâmetros de qualidade dos biodieseis foram previstos de acordo com as Equações 18, 19 e 20.^{15,49} Os cálculos se baseiam na composição em ácidos graxos dos óleos vegetais obtidas por cromatografia gasosa (CG).

$$\ln \mu = \sum_{i=1}^n y_i \ln \mu_i \quad (18)$$

$$IN = \sum_{i=1}^n \frac{254 \times \delta \times A_i}{MW_i} \quad (19)$$

$$CN = 46,3 + \frac{5458}{SV} - 0,225 \times IN \quad (20)$$

Nessas equações, temos que: A_i representa o percentual de cada ácido graxo determinado por CG; y_i é $A_i/100$; MW_i é a massa molecular do ácido graxo; δ é o número de duplas ligações presentes na cadeia do ácido graxo; μ e μ_i representam a viscosidade cinemática a 40° C para a mistura e para cada ácido graxo, respectivamente; e $SV = \sum (560 \times A_i) / MW_i$ (índice de saponificação).

A Tabela 4 expõe as características dos ácidos graxos encontrados nas matrizes oleaginosas e a Tabela 5 exhibe as composições em ácidos graxos das mesmas. Essas composições foram retiradas da literatura.

Tabela 4. Ácidos graxos encontrados nas matrizes oleaginosas e suas características.

Ácidos Graxos	Sigla	Fórmula Química	Número de Insaturações	Massa Molecular (g/mol)	Viscosidade (mm ² /s) ¹⁸
Caprílico	Cl	C ₈ H ₁₆ O ₂	0	144,2	1,2
Cáprico	C	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	0	172,3	1,7
Láurico	La	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	0	200,3	2,4
Mirístico	M	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	0	228,4	3,3
Palmítico	P	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	0	256,4	4,4
Esteárico	Es	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	0	284,5	5,9
Oléico	O	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	1	282,5	4,5
Linoléico	L	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	2	280,4	3,7
Linolênico	Ln	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	3	278,4	3,1
α-Eleosteárico	α	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	3	278,4	-
Araquídico	A	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	0	312,5	5,9
Gadoleico	G	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	1	310,5	5,8
Erúico	Eu	C ₂₂ H ₄₂ O ₂	1	338,6	7,3
Ricinoleico	R	C ₁₈ H ₃₄ O ₃	1	298,5	15,4

Tabela 5. Composições em ácidos graxos das oleaginosas em estudo (determinado por cromatografia gasosa - CG).

Ref.	Oleaginosa	Cl (8:0)	C (10:0)	La (12:0)	M (14:0)	P (16:0)	Es (18:0)	O (18:1)	L (18:2)	Ln (18:3)	α (18:3)	A (20:0)	G (20:1)	Eu (22:1)	R (18:1-OH)
49	Amendoim	0	0	0	0	10,6	5,4	49,9	33,4	0,5	0	1,3	0	0,2	0
4	Babaçu	5,0	6,0	44,0	17,0	8,0	4,5	14,0	2,0	0	0	0	0	0	0
49	Canola	0	0	0	0,1	3,7	2,4	60,0	21,8	11,3	0	0	0	0,5	0
50	Cutieira	0	0	0	0	5,7	2,8	25,6	65,1	0	0	0	0	0	0
49	Dendê	0	0	0,2	1,0	39,8	6,2	41,9	10,9	0	0	0	0	0	0
51	Girassol	0	0	0	0	6,7	4,3	21,1	67,8	0,2	0	0	0	0	0
52	Linhaça	0	0	0	0	5,2	3,2	14,5	15,3	61,9	0	0	0	0	0
53	Mamona	0	0	0	0	1,3	1,2	3,6	5,5	0	0,5	0	0	0	86,0
51	Milho	0	0	0	0	12,0	2,9	32,2	52,2	0,7	0	0	0	0	0
54	Munguba	0	0	0	0	68,3	4,4	10,0	6,4	0	0	0	0	0	0
55	Nabo	0	0	0	0	5,7	2,2	34,5	17,8	12,5	0	1,0	10,0	16,4	0
53	Nogueira	0	0	0	0	8,0	2,1	23,7	38,1	28,1	0	0	0	0	0
53	Pinhão	0	0	0	0	16,9	6,7	36,6	39,0	0	0	0	0	0	0
51	Soja	0	0	0	0	12,7	4,0	23,6	55,3	4,5	0	0	0	0	0
56	Tungue	1,3	0	0	0	2,3	2,4	5,6	6,3	0,1	82,2	0,2	0,9	0	0

3.2.2 Análises Quimiométricas dos dados obtidos por CPMG

Os sinais de CPMG das amostras de óleos vegetais, adquiridos no MARAN, também foram utilizados em estudos quimiométricos, da seguinte maneira: selecionaram-se os valores de intensidade dos 1000 primeiros ecos de cada matriz alocando-os em 1000 colunas; esses valores foram autoescalonados, ou seja, cada valor de intensidade de uma determinada coluna foi subtraído do valor de intensidade média e dividido pelo desvio padrão, ambos da referida coluna; sendo assim, as análises de agrupamentos hierárquicos (HCA) e de componentes principais (PCA) foram realizadas com esses dados utilizando-se o *software* Minitab®, versão 14 (Statistical Software, State College, USA).

Na análise de HCA utilizou-se a distância euclidiana ao quadrado para calcular as similaridades entre as amostras e o método de Ward para compor os grupos. Já na análise de PCA, como os dados foram autoescalonados, durante o processo calculou-se a matriz de correlação e não de covariância.

Assim como para as amostras de óleo vegetal, sinais de CPMG (em triplicata) também foram obtidos para amostras de sementes intactas. As amostras continham, aproximadamente, 30 g de sementes.

Com os dados obtidos, foram realizados os estudos quimiométricos de HCA e PCA. O pré-tratamento dos dados foi praticamente o mesmo do realizado para as amostras de óleo vegetal, a única diferença decorreu do fato de que as curvas de decaimento dos sinais de CPMG foram normalizadas. A normalização foi realizada porque as sementes apresentam diferentes teores de óleo, dessa forma, estudos comparativos com seus sinais de decaimento são mais adequados.

3.2.3 Análises por CWFP e CP-CWFP

As quinze amostras de óleo vegetal, indicadas na Tabela 5, também foram analisadas por CWFP e CP-CWFP. Os experimentos foram realizados a $22 \pm 1^\circ\text{C}$ no espectrômetro CAT-100 da Tecmag (Tecmag, Houston), com um ímã que opera a 0,5

T (21 MHz para ^1H) de um aparelho Mini Spec PC 100, da Bruker (Figura 20). Tal equipamento está instalado na Embrapa Instrumentação Agropecuária (São Carlos – SP). O sistema foi controlado pelo *software* NTNMR da Tecmag.

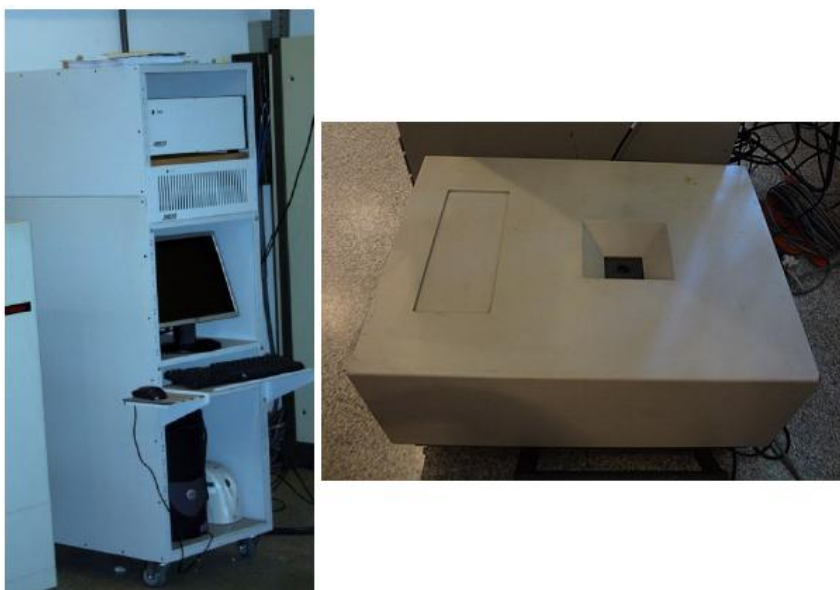


Figura 20. Fotos do espectrômetro CAT-100 da Tecmag e do Mini Spec PC 100 da Bruker.

Tanto as análises com a sequência CWFP quanto as análises com CP-CWFP foram realizadas com um trem de 4096 pulsos separados por um tempo τ de 300 μs . O tempo total de aquisição entre os pulsos foi de 256 μs , usando um tempo de digitalização de 4 μs o que resulta na coleta de 64 pontos. Foram somados 16 transientes com tempo de repetição de 2 s e utilizou-se uma frequência de offset de 5 kHz equivalente a um ângulo de precessão (ψ) de 3π . As medidas foram realizadas em triplicata.

Os decaimentos dos sinais obtidos com essas sequências foram exportados como arquivo *txt*, no modo de magnitude. Os dados foram importados no Origin®, versão 8 (Data Analysis and Graphing Software, Northampton, USA), onde os dados da magnitude do sinal foram expandidos em 64 colunas. Em seguida fez-se a média dos valores dessas colunas e os valores obtidos foram utilizados para construção da curva de decaimento do sinal. A coluna com os valores de tempo foi calculada com base nos intervalos entre os pulsos.

Através de um ajuste monoexponencial das curvas de decaimento dos sinais de CWFP e CP-CWFP obtiveram-se os valores de T^* das amostras (constante de decaimento no estado quase estacionário). Além disso, com base nas Equações 12 e 13, os valores de T_1 e T_2 das amostras foram calculados.

No Tecmag, as amostras também foram analisadas por CPMG para comparar os valores de T_2 encontrados com uso desta sequência com os valores obtidos por CWFP e CP-CWFP. Para as análises com a sequência de CPMG utilizou-se um tempo τ de 200 μ s e foram adquiridos 3000 ecos. O tempo total de aquisição de cada eco foi de 256 μ s, usando um tempo de digitalização de 4 μ s o que resulta na coleta de 64 pontos por eco. Foram somadas 16 transientes com tempo de repetição de 2 s e as medidas foram realizadas em triplicata.

Os decaimentos dos sinais obtidos por CPMG tiveram suas fases ajustadas para o valor máximo no canal real e mínimo no imaginário. Em seguida foram exportados como arquivo *txt*. No Origin®, versão 8 (Data Analysis and Graphing Software, Northampton, USA), os arquivos foram importados e a coluna de dados reais foi expandida em 64 colunas. Depois disso, a média dos valores dessas colunas foi calculada e os valores obtidos foram utilizados para construção da curva de decaimento do sinal. A coluna com os valores de tempo foi calculada com base nos intervalos entre os ecos. Os valores de T_2 foram obtidos a partir de um ajuste monoexponencial das curvas de decaimento do sinal.

Os sinais de CWFP e CP-CWFP das amostras de óleos vegetais, adquiridos no Tecmag, também foram utilizados em estudos quimiométricos. Os valores de intensidade obtidos depois dos 1000 primeiros pulsos de cada matriz foram selecionados, alocando-os em 1000 colunas. Depois esses valores foram autoescalados, ou seja, cada valor de intensidade de uma determinada coluna foi subtraído do valor de intensidade média e dividido pelo desvio padrão, ambos da referida coluna. Sendo assim, as análises de agrupamentos hierárquicos (HCA) e de componentes principais (PCA) foram realizadas com esses dados utilizando-se o *software* Minitab®, versão 14 (Statistical Software, State College, USA).

Na análise de HCA foi utilizada a distância euclidiana ao quadrado para calcular as similaridades entre as amostras e o método de Ward para agrupar as amostras. Já na análise de PCA, como os dados foram autoescalados, durante o processo calculou-se a matriz de correlação e não de covariância.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Determinação do Teor de Lipídeos das Sementes Oleaginosas

A construção das curvas analíticas, para relacionar a intensidade do sinal de RMN de ^1H com o teor de óleo das amostras de sementes, foi realizada com base em dados como os expressos na Tabela 6, para exemplificação, na qual a intensidade do sinal de RMN é a média das intensidades dos 16 pontos selecionados do FID, da curva de decaimento, do eco ou do sinal em regime estacionário, dependendo da sequência em questão, correspondentes aos experimentos realizados com cada amostra padrão. O processo de seleção dos pontos muda de acordo com a sequência de pulsos aplicada, conforme descrito na parte experimental.

As curvas construídas a partir dos valores expressos na Tabela 6, exibidas na Figura 21, estão de acordo com o esperado, pois elas são resultado da relação linear existente entre a intensidade do sinal de RMN de ^1H e a concentração de hidrogênio presente nas amostras.

Tabela 6. Dados referentes à construção das curvas analíticas para as sementes de soja.

Massa de óleo da amostra padrão (g)	Intensidade do sinal de RMN			
	Pulso Único (u. a.)	Spin-eco (u. a.)	CPMG (u. a.)	CWFP (u. a.)
5,023	$6,317 \times 10^2$	$5,901 \times 10^2$	$5,798 \times 10^2$	$6,06 \times 10^0$
10,078	$1,250 \times 10^3$	$1,205 \times 10^3$	$1,163 \times 10^3$	$1,30 \times 10^1$
15,123	$1,876 \times 10^3$	$1,791 \times 10^3$	$1,750 \times 10^3$	$2,06 \times 10^1$
20,016	$2,473 \times 10^3$	$2,367 \times 10^3$	$2,294 \times 10^3$	$2,65 \times 10^1$
25,144	$3,117 \times 10^3$	$2,988 \times 10^3$	$2,897 \times 10^3$	$3,58 \times 10^1$
30,197	$3,729 \times 10^3$	$3,612 \times 10^3$	$3,465 \times 10^3$	$4,34 \times 10^1$

Os coeficientes de correlação (R^2) das curvas analíticas de todas as matrizes analisadas são apresentados na Tabela 7. Os valores obtidos foram muito satisfatórios, pois são bastante superiores a 0,97, valor mínimo aceitável nesse tipo de análise.²⁵

As curvas analíticas das demais matrizes, as equações lineares que descrevem as mesmas e os dados necessários para suas construções, são exibidas nos Anexos

(p. 100).

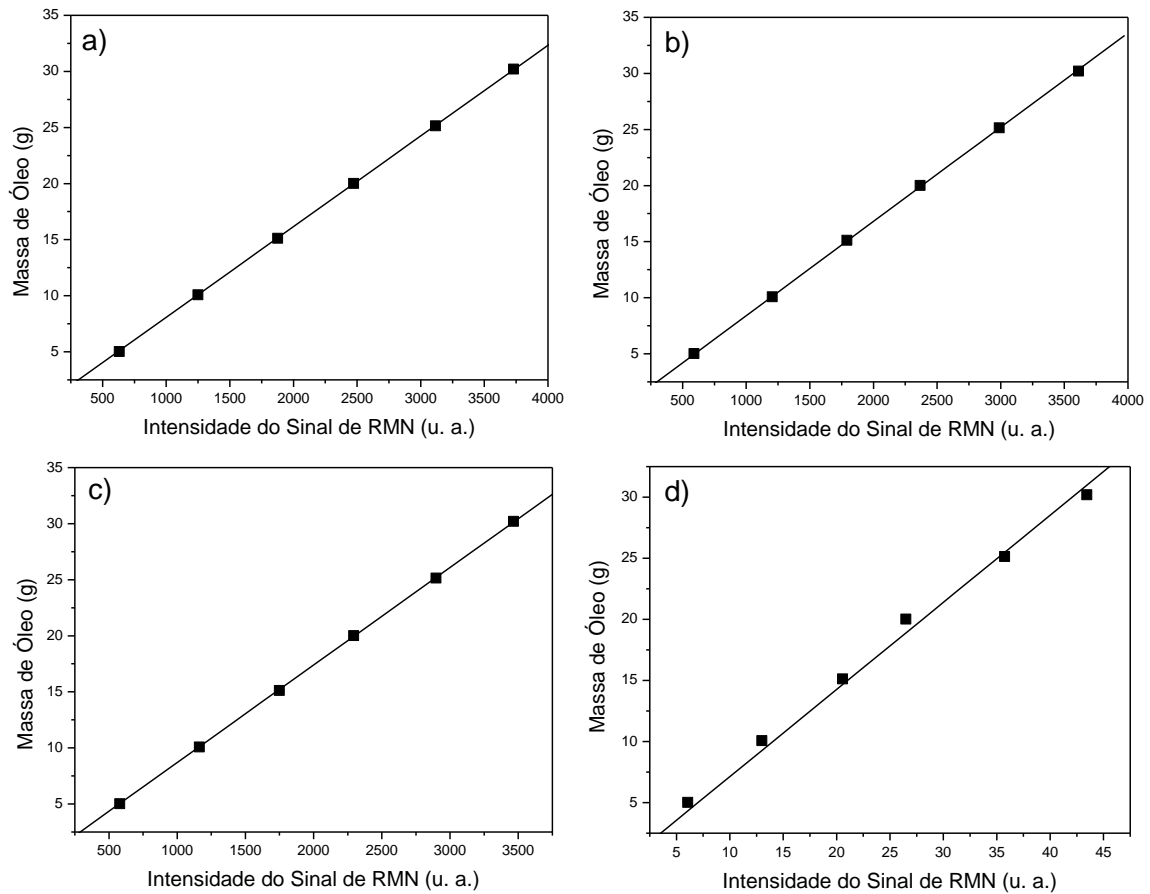


Figura 21. Curvas analíticas para as sementes de soja de acordo com a sequência de pulsos aplicada: a) pulso único; b) spin-eco; c) CPMG e d) CWFP.

Tabela 7. Coeficientes de correlação das curvas analíticas.

Oleaginosa	Pulso Único	CPMG	Spin-eco	CWFP
Amendoim	0,9999	0,9999	0,9999	0,9965
Cutieira	0,9999	0,9999	0,9999	0,9950
Girassol	0,9980	0,9985	0,9984	0,9988
Nabo Forrageiro	0,9999	0,9999	1,0000	0,9987
Pinhão Manso	0,9999	0,9999	0,9999	0,9967
Soja	0,9999	0,9999	0,9999	0,9999

A partir das análises por RMN de ^1H das amostras de sementes, pré e pós-extração do óleo, pôde-se calcular o rendimento do processo de extração, de acordo com a Equação 21, para posterior comparação com o rendimento calculado pelo método da extração por solvente (m/m), Equação 22.

$$R(\%) = \frac{T_i - T_f}{m_{amostra}} \cdot 100 \quad (21)$$

$$R(\%) = \frac{m_{\acute{o}leo}}{m_{amostra}} \cdot 100 \quad (22)$$

Onde: T_i é o teor de óleo antes da extração, T_f é o teor após a extração, $m_{amostra}$ é a massa da amostra de sementes e $m_{\acute{o}leo}$ é a massa de óleo extraída. Vale ressaltar que T_i e T_f são obtidos através das equações lineares que descrevem as curvas analíticas das oleaginosas em estudo de acordo com a sequência de pulsos aplicada. Por exemplo, as equações para a soja são apresentadas a seguir:

$$T_{soja_pulso\acute{u}nico} (g) = (0,00808 \pm 0,00003) \cdot \Lambda \quad (23)$$

$$T_{soja_spin-eco} (g) = (0,00840 \pm 0,00004) \cdot \Lambda \quad (24)$$

$$T_{soja_CPMG} (g) = (0,00870 \pm 0,00003) \cdot \Lambda \quad (25)$$

$$T_{soja_CWFP} (g) = (0,71 \pm 0,03) \cdot \Lambda \quad (26)$$

A incógnita lambda (Λ) representa a intensidade do sinal de RMN de 1H para a amostra de semente em estudo (os valores correspondentes às amostras de soja são apresentados na Tabela 8), a qual foi obtida da mesma forma que para as amostras padrões: através da média das intensidades dos 16 pontos selecionados do FID, do eco, da curva de decaimento ou do regime estacionário.

Assim, com base nas equações 1 a 6 e nos dados exibidos na Tabela 8, calcularam-se os rendimentos dos processos de extração pelos dois métodos, extração por solvente (m/m) e RMN de 1H de baixo campo, para as amostras de soja. Os resultados obtidos são expostos na Tabela 9, juntamente com os valores referentes às amostras das outras matrizes oleaginosas.

Os dados necessários para os cálculos dos rendimentos dos processos de extração das demais matrizes também são exibidos nos Anexos (p. 100).

Tabela 8. Dados relacionados aos cálculos dos rendimentos dos processos de extração do óleo das amostras de sementes de soja medidos pelo método clássico (m/m) e por RMN de ^1H .

Amostra	Massa da amostra (g)	Massa de óleo extraída (g)	Intensidade do sinal de RMN antes da extração (\wedge_i)				Intensidade do sinal de RMN após a extração (\wedge_f)			
			Pulso Único (u. a.)	Spin-eco (u. a.)	CPMG (u. a.)	CWFP (u. a.)	Pulso Único (u. a.)	Spin-eco (u. a.)	CPMG (u. a.)	CWFP (u. a.)
1	30,034	4,842	$9,070 \times 10^2$	$8,720 \times 10^2$	$7,820 \times 10^2$	$1,01 \times 10^1$	$5,106 \times 10^2$	$4,355 \times 10^2$	$3,602 \times 10^2$	$6,75 \times 10^0$
2	30,028	4,692	$9,107 \times 10^2$	$8,508 \times 10^2$	$7,813 \times 10^2$	$1,19 \times 10^1$	$3,697 \times 10^2$	$2,981 \times 10^2$	$2,280 \times 10^2$	$6,50 \times 10^0$
3	30,033	4,727	$9,150 \times 10^2$	$8,402 \times 10^2$	$7,691 \times 10^2$	$1,30 \times 10^1$	$4,632 \times 10^2$	$3,816 \times 10^2$	$3,032 \times 10^2$	$7,00 \times 10^0$

Tabela 9. Rendimentos (%) dos processos de extração do óleo das sementes oleaginosas medidos pelo método clássico (m/m) e por RMN de ^1H .

Matriz Oleaginosa	Amostra	(m/m)	Pulso Único	Spin-eco	CPMG	CWFP	CWFP*
Amendoim	1	37,23	31,98	34,13	34,15	21,34	22,73
	2	35,38	31,16	32,82	33,19	22,97	26,38
	3	35,66	30,26	31,01	31,80	25,35	25,51
Cutieira	1	43,62	43,71	44,63	45,52	40,80	50,66
	2	46,39	45,55	45,20	46,52	45,67	50,61
	3	45,49	44,25	44,19	45,13	41,65	50,75
Girassol	1	42,54	38,67	40,01	40,32	29,32	32,71
	2	40,54	35,25	36,92	36,88	38,59	40,65
	3	44,28	39,98	40,94	41,61	42,96	45,27
Nabo Forrageiro	1	27,57	20,06	21,20	21,84	17,28	20,06
	2	27,58	19,71	19,74	21,04	20,74	25,18
	3	30,65	23,59	24,21	25,24	30,62	31,40
Pinhão Manso	1	51,85	43,20	44,77	47,90	29,67	30,43
	2	55,48	45,25	45,43	48,95	34,20	35,65
	3	53,73	44,72	46,82	49,29	35,51	38,72
Soja	1	16,12	10,66	12,21	12,22	7,88	10,38
	2	15,63	14,56	15,46	16,03	12,94	15,12
	3	15,74	12,15	12,83	13,50	14,28	16,80

*Obtidos em experimentos com aquisição de 4 transientes.

Verifica-se que o método de extração por solvente produziu valores um pouco acima dos obtidos por RMN. Em termos de valores absolutos, os erros médios nas predições dos rendimentos dos processos de extração medidos por RMN são exibidos na Tabela 10.

Tabela 10. Erros médios nas predições dos rendimentos dos processos de extração medidos por RMN de acordo com a sequência de pulsos aplicada.

Pulso Único	Spin-eco	CPMG	CWFP	CWFP*
15,1%	12,2%	10,1%	23,2%	19,1%

*Obtido a partir de experimentos com aquisição de 4 transientes.

A extração de substâncias das sementes como a mucilagem, que apresenta em sua composição proteínas e carboidratos, pode fazer com que o rendimento calculado pelo método clássico seja superior ao real. Como essas substâncias não contribuem para o sinal de RMN de ^1H , pela ocorrência de valores de T_2 excessivamente baixos, os rendimentos dos processos de extração calculados por este método acabam sendo menores do que os calculados pelo método clássico.^{25,27,37,42} Porém, essa contribuição nas diferenças dos rendimentos calculados entre os dois métodos é muito pequena.

O que contribui consideravelmente para os erros médios (Tabela 10) são as baixas razões sinal/ruído nas etapas de análise das sementes pós-extração do óleo,

uma vez que a quantidade de óleo nas amostras de sementes, depois do processo de extração, é muito pequena. A Figura 22 compara os sinais adquiridos antes da etapa de extração (curvas em preto) com os sinais adquiridos após a extração dos lipídeos (curvas em vermelho), de acordo com a sequência de pulsos aplicada. Através da visualização desta figura é possível identificar a perda de sinal de uma etapa para outra, o que origina as baixas razões sinal/ruído. O aumento de ruído na etapa de análise após a extração dos lipídeos faz com que a amplitude do sinal de RMN seja maior do que deveria, diminuindo os rendimentos dos processos de extração calculados a partir do uso desta técnica.

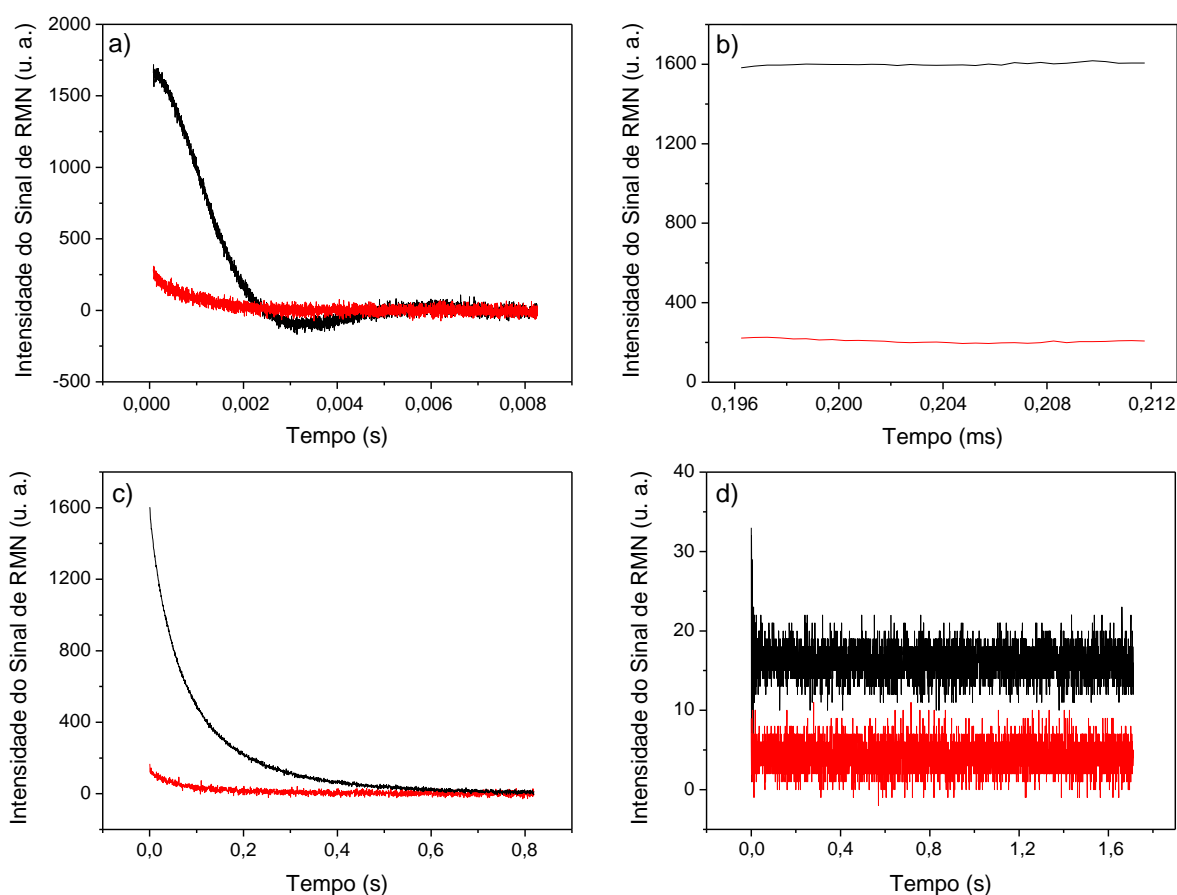


Figura 22. Sinais adquiridos para a Amostra 1 de pinhão manso antes da etapa de extração dos lipídeos (curvas em preto) e após a extração (curvas em vermelho), de acordo com a sequência de pulsos aplicada: a) pulso único; b) spin-eco; c) CPMG; d) CWFP.

Verifica-se que as análises com as sequências de pulsos que originaram menores erros médios nas predições dos rendimentos de extração por RMN, são as que apresentaram maiores razões sinal/ruído nos experimentos (CPMG e spin-eco), inclusive nas etapas de análise das sementes pós-extração dos lipídeos. Outra constatação que se pode fazer, através da Figura 22d, é que os experimentos

conduzidos com a sequência de CWFP originaram os sinais mais ruidosos. Dessa forma, a razão sinal/ruído é a mais baixa, ocasionando o maior erro médio entre as sequências de pulsos. Para contornar este problema, os experimentos com uso de CWFP foram repetidos aumentando-se o número de transientes adquiridas para 4. Os rendimentos dos processos de extração obtidos sob estas condições também são expostos na Tabela 9. Sendo assim, os sinais adquiridos foram menos ruidosos (Figura 23), consequentemente a razão sinal/ruído foi elevada e o erro médio passou para 19,1% (Tabela 10), uma pequena melhora, evidenciando que os erros médios realmente estão relacionados aos valores das razões sinal/ruído dos experimentos.

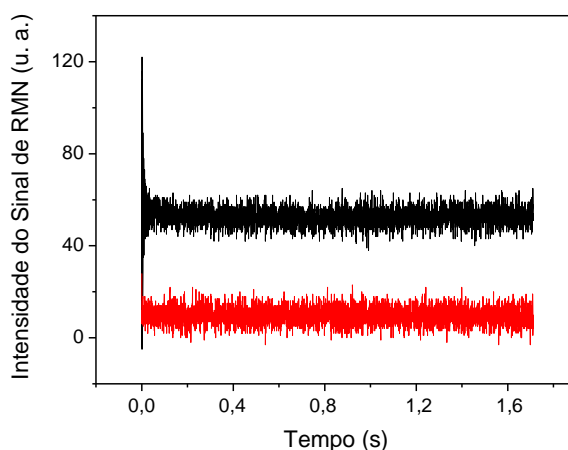


Figura 23. Sinais adquiridos para a Amostra 1 de pinhão manso antes da etapa de extração dos lipídeos (curvas em preto) e após a extração (curvas em vermelho) com aplicação da sequência de CWFP em um total de 4 transientes adquiridos.

Para as análises com uso da sequência de pulso único e spin-eco, pode-se, ainda, listar mais um fator que contribui para os erros médios. Como o FID e o eco dependem da inomogeneidade do campo magnético (ΔB_0), as alturas das amostras padrões, utilizadas para fazer as curvas de calibração, dentro dos tubos de análise, deveriam ser as mesmas das amostras de sementes. Dessa forma os sinais obtidos em todas as etapas de análise seriam afetados da mesma forma pela inomogeneidade do campo magnético, minimizando a contribuição desse efeito sobre os resultados.⁵⁷ Como esse procedimento não foi realizado, as alturas das amostras padrões nos tubos foram inferiores às alturas das amostras de sementes, a inomogeneidade do campo magnético interferiu nas análises colaborando para o aumento do erro médio quando se aplicou pulso único e spin-eco. Na etapa de

construção das curvas de calibração pode-se realizar um artifício experimental para contornar esse problema. A solução seria utilizar dentro do tubo de análise um material que pudesse absorver uniformemente o óleo das amostras padrões – como uma esponja, por exemplo – que tivesse a mesma altura das amostras de sementes e que não contribuísse para o sinal de RMN.

Apesar dos erros médios resultantes, os gráficos que relacionam os valores de rendimento obtidos pelos métodos de RMN e extração por solvente, Figura 24, indicam a alta correlação existente entre os dois métodos quando se utiliza as sequências de pulso único, spin-eco e CPMG, como pode ser observado em (a), (b) e (c). Já nos experimentos com aplicação da sequência de CWFP a correlação com o método de extração por solvente foi baixa, vide (d) na Figura 24.

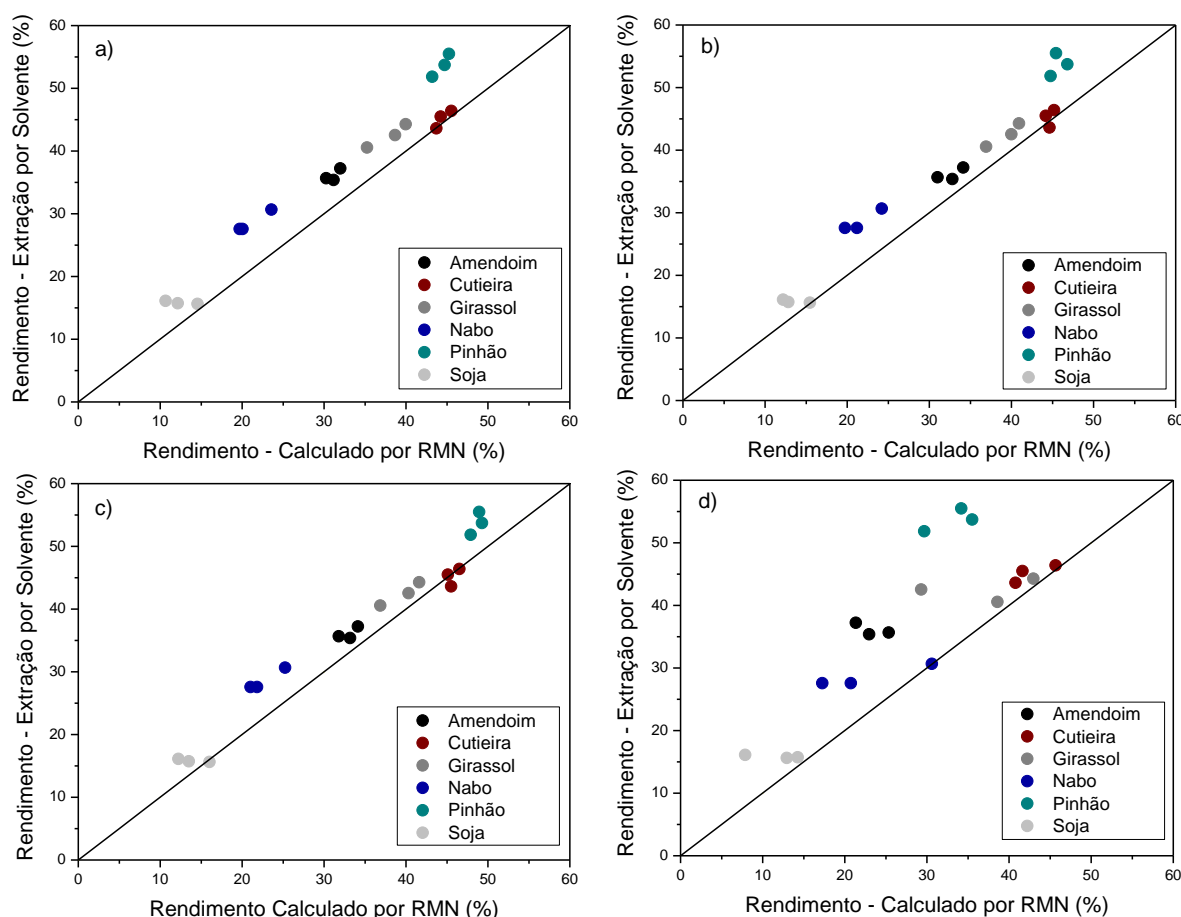


Figura 24. Comparação entre os valores dos rendimentos obtidos pelo método de RMN e por extração por solvente, com as respectivas sequências de pulsos: a) pulso único; b) spin-eco; c) CPMG e d) CWFP. As retas em cada gráfico correspondem à função identidade.

A alta correlação entre os métodos de extração por solvente e RMN de ^1H de

baixo campo, quando se utiliza pulso único, spin-eco e CPMG, são um indicativo da eficiência destas análises na determinação dos teores de lipídeos das sementes de matrizes oleaginosas. Dessa forma, os teores de óleo das matrizes estudadas são apresentados na Tabela 11 – na qual os valores representam a média dos teores encontrados para as três amostras de cada oleaginosa – e são obtidos a partir da Equação 27. Lembrando que os valores de T_i (teor de óleo antes da extração) são obtidos através das equações lineares que descrevem as curvas analíticas de cada oleaginosa (Equações 13 a 16 para a soja) e em dados como os expostos na Tabela 8 (exemplificação da soja).

$$T(\%) = \frac{T_i}{m_{amostra}} \cdot 100 \quad (27)$$

Tabela 11. Teor de óleo médio (%) nas sementes estudadas.

Oleaginosa	Pulso Único	Spin-eco	Spin-eco*	CPMG	CPMG*	CWFP
Amendoim	41,3 ± 0,6	41,6 ± 0,2	44,3 ± 0,2	39,7 ± 0,3	39,6 ± 0,2	33 ± 2
Cutieira	53,6 ± 0,1	52,8 ± 0,3	57,1 ± 0,2	52,4 ± 0,1	52,83 ± 0,05	53 ± 2
Girassol	60,2 ± 0,6	60,5 ± 0,6	63,7 ± 0,7	58,8 ± 0,5	60,2 ± 0,6	57 ± 9
Nabo Forrageiro	38,08 ± 0,02	37,1 ± 0,2	40,1 ± 0,2	36,0 ± 0,2	36,2 ± 0,2	39 ± 5
Pinhão Manso	51,9 ± 0,3	51,9 ± 0,4	54,9 ± 0,2	52,3 ± 0,1	51,5 ± 0,2	43 ± 3
Soja	24,5 ± 0,1	23,9 ± 0,5	28,5 ± 0,3	22,5 ± 0,2	22,8 ± 0,2	28 ± 4

*Sem o processo de desidratação.

Os teores de óleo encontrados por pulso único, spin-eco e CPMG foram compatíveis entre si, confirmando a confiabilidade das análises de RMN de ^1H nesse tipo de determinação. Além disso, os desvios padrões das medidas de teor de óleo médio, encontrados a partir do uso dessas três sequências de pulsos, foram todos muito pequenos (Tabela 11). Essa é mais uma evidência da eficácia dos experimentos de RMN de ^1H na determinação dos teores de lipídeos de matrizes oleaginosas quando se aplicam essas três sequências de pulsos.

Destaca-se que, para determinar o teor de óleo nas amostras de sementes são utilizados apenas os dados obtidos antes da extração dos lipídeos das mesmas, logo, as razões sinal/ruído são altas quando se aplicam essas três sequências de pulsos. Portanto, na avaliação do teor de lipídeos das amostras, os problemas de baixas razões sinal/ruído não interferiram nas análises como ocorreram nas determinações dos rendimentos dos processos de extração dos lipídeos das mesmas amostras.

A grande vantagem do uso das sequências de CPMG e spin-eco é a possibilidade de eliminar a etapa de desidratação das sementes.²⁷ Conforme verificado pela diferença ínfima entre os teores encontrados por CPMG, com ou sem desidratação, a etapa de desidratação pode ser eliminada quando se utiliza esta sequência. Entretanto, o mesmo não é válido quando se aplica spin-eco, visto que, a água contribuiu para o sinal de RMN quando o processo de desidratação não foi realizado.

Tais constatações são mais fáceis de ser identificadas a partir da interpretação da Figura 25, onde se comparam os sinais obtidos por CPMG (sendo apresentados apenas os 16 primeiros ecos adquiridos) e spin-eco, antes (curvas em preto) e depois da realização da etapa de desidratação das amostras de sementes (curvas em vermelho). Na Figura 25a observa-se que os sinais de CPMG estão quase totalmente sobrepostos, ou seja, a água realmente não contribuiu para a intensidade do sinal quando a etapa de desidratação não foi realizada. Já quando se aplicou a sequência de spin-eco, Figura 25b, o sinal antes da etapa de desidratação foi mais intenso do que após a etapa de desidratação, ou seja, a água contribuiu para a intensidade do sinal quando a etapa de desidratação não foi realizada.

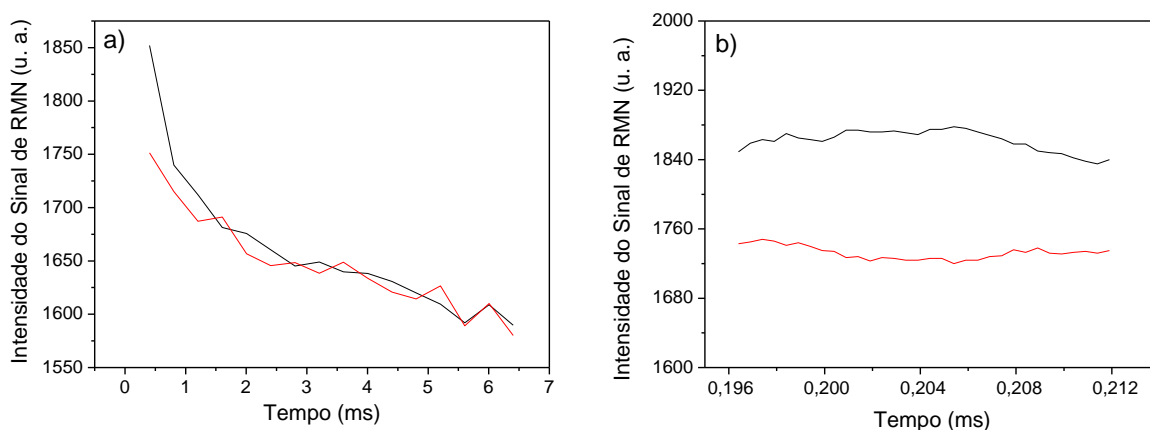


Figura 25. Sinais adquiridos para a Amostra 1 de cutieira antes da etapa de desidratação (curvas em preto) e após a desidratação (curvas em vermelho), de acordo com a sequência de pulsos aplicada: a) CPMG (16 primeiros ecos); b) spin-eco.

Essa diferença ocorre porque quando se aplicou CPMG, a intensidade do sinal de RMN foi dada a partir da média de intensidade dos 16 primeiros ecos, sendo assim, a água pode contribuir apenas na intensidade dos primeiros ecos, como pode ser observado na Figura 25a, relaxando depois devido ao tempo decorrido durante a

aplicação dos pulsos. Logo, no resultado final essa contribuição acaba sendo desprezível. Já quando a sequência de spin-eco foi utilizada, a intensidade do sinal de RMN foi calculada a partir da média dos 16 pontos de um único eco, dessa forma, a água acabou contribuindo para o sinal porque τ foi pequeno (100 μ s), não permitindo que a água relaxasse totalmente.

Além da correlação com o método de extração por solvente ter sido baixa quando se utilizou a sequência de CWFP, os teores de óleo das matrizes encontrados nestes experimentos não foram compatíveis com os obtidos a partir do uso das outras sequências de pulsos, apesar de em alguns casos os valores terem sido próximos. E, ainda, de acordo com a Tabela 11, os teores médios obtidos por CWFP são os que apresentam maiores desvios padrões. Portanto, torna-se necessário fazer novos testes com o uso desta sequência, de forma a encontrar os parâmetros adequados que tornem seu uso mais conveniente, uma vez que, o uso de CWFP é interessante devido ao curto período de análise.^{14,36-39} Enquanto os experimentos com uso dessa sequência duraram em torno de 2 s para aquisição do sinal, as análises por pulso único, spin-eco e CPMG duraram aproximadamente 1, 1 e 1,5 min, respectivamente. Nos experimentos aqui descritos, essa diferença de tempo não é tão relevante, contudo, em análises on-line, como encontrado em literatura, o curto tempo de aquisição do sinal por CWFP permite a análise de milhares de sementes por hora.³⁸

Vale ressaltar que a quantidade de óleo extraída é inferior ao teor de lipídeos das sementes, conforme pode ser observado pelos resultados deste trabalho. As amostras de cutieira, por exemplo, com teor médio de 52,4% de lipídeos (valor obtido pela sequência de CPMG com desidratação, Tabela 11), resultaram em uma extração média de 45,7% (valor calculado a partir dos rendimentos exibidos na Tabela 9 pela sequência de CPMG). Nas indústrias, o método de prensagem é o mais utilizado para realizar os processos de extração, visto que, esse procedimento é capaz de maximizar os rendimentos, aproveitando toda a potencialidade das sementes para produção de óleo vegetal.

Com os teores de lipídeos encontrados podem ser construídas curvas de pareamento com os rendimentos dos processos de extração calculados pelo método clássico (m/m), mas cada oleaginosa deve ter seu próprio pareamento. Dessa forma,

com o uso das equações que regem as curvas, uma única análise pela técnica de RMN de ^1H (pré-extração) pode ser utilizada com boa precisão na determinação dos rendimentos esperados para os processos de extração por solvente, conforme registrado na literatura.²⁶ Contudo, devido ao baixo número de amostras analisadas por matriz, apenas três, não foi possível aplicar esse procedimento.

4.2 Avaliação da Qualidade dos Lipídeos Presentes nas Sementes Oleaginosas

As análises para avaliação da qualidade dos óleos vegetais são baseadas na correlação existente entre os valores de T_2 (relaxação transversal) das amostras de óleo e parâmetros de qualidade das mesmas, tais como: viscosidade, índice de cetano e índice de iodo. Nesse sentido, experimentos com o uso da sequência de pulsos CPMG tornam-se mais interessantes, uma vez que, a curva de decaimento do sinal obtida por esta sequência é governada somente por T_2 .

4.2.1 Relação entre T_2 e Parâmetros de Qualidade de Biodiesel

Os sinais de CPMG obtidos para cinco amostras de óleo são apresentados na Figura 26, nas quais curvas com decaimento mais rápido apresentam menores valores de T_2 . Verifica-se que a ordem crescente de viscosidade para as amostras é a seguinte: cutieira < soja < girassol < amendoim < nabo forrageiro. Isso porque, a viscosidade cinemática dos óleos apresenta correlação inversa com os valores de T_2 .^{15,58}

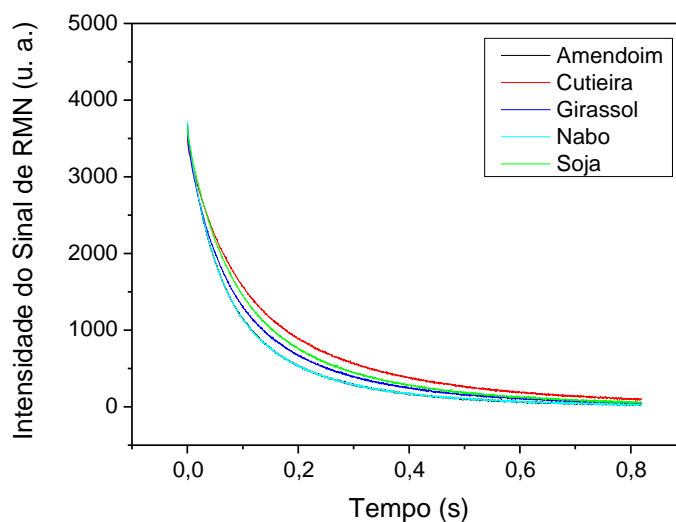


Figura 26. Sinais de decaimento obtidos por CPMG para cinco amostras de óleo vegetal.

A Tabela 12 exibe os valores de viscosidade cinemática desses cinco óleos vegetais, obtidos pelo método ASTM D 7042 a 20° C, e os valores de T_2 das mesmas amostras obtidos a partir de um ajuste monoexponencial das curvas de decaimento expostas na Figura 26.

Tabela 12. Constantes de relaxação transversal (T_2) e viscosidades cinemáticas de cinco matrizes oleaginosas analisadas no Maranhão.

Oleaginosa	T_2 (s)	Viscosidade Cinemática (mm ² /s)
Cutieira	0,141	40,545
Soja	0,122	67,075
Girassol	0,114	78,499
Amendoim	0,095	80,325
Nabo Forrageiro	0,094	88,977

Com base nos dados da Tabela 12, pode-se confirmar a correlação inversa existente entre os valores de T_2 e a viscosidade cinemática de óleos vegetais através da curva de correlação entre tais parâmetros, apresentada na Figura 27. Tal confirmação pode ser realizada por causa do coeficiente de correlação da curva (R^2), que apresenta valor de 0,88, e o fato dela ser decrescente, ou seja, quanto maior for o valor de T_2 menor será a viscosidade do óleo vegetal.

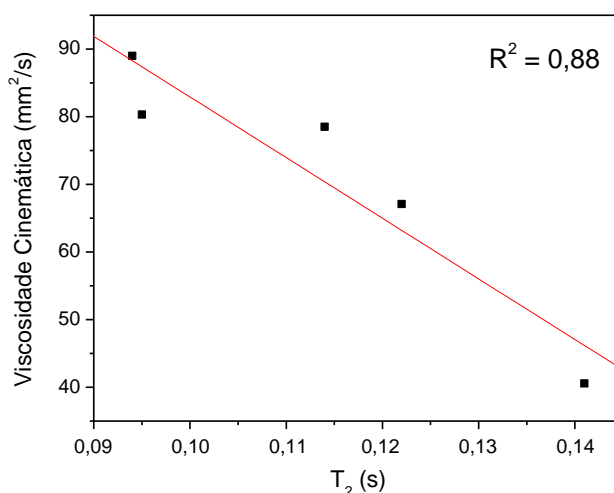


Figura 27. Curva de correlação entre os valores de T_2 e de viscosidade cinemática para cinco óleos vegetais.

A correlação inversa existente entre a viscosidade dos óleos vegetais e seus valores de T_2 pode ser explicada a partir do tempo de correlação das moléculas (τ_c). O tempo de correlação é definido como o tempo médio necessário para a molécula rodar através de um ângulo de 1 radiano em torno de qualquer eixo. As moléculas mais viscosas são as que apresentam os maiores valores de τ_c , pois possuem

menor mobilidade molecular. Sendo assim, a mobilidade dos spins dessas moléculas também é pequena fazendo com que elas relaxem mais facilmente, ou seja, que elas possuam T_2 curtos. Já as moléculas menos viscosas são caracterizadas por uma maior mobilidade dos spins, pois apresentam τ_c curtos, dessa forma, seus valores de T_2 serão mais longos.³⁰

A viscosidade dos óleos vegetais é dependente da composição em ácidos graxos dos mesmos. O aumento da cadeia dos ácidos graxos eleva a viscosidade e para compostos com mesmo tamanho de cadeia, quanto maior o grau de insaturações menor a viscosidade. A Tabela 5 exibe a composição em ácidos graxos de todas oleaginosas em estudo, e os sinais de CPMG obtidos para as quinze amostras de óleo vegetal são apresentados na Figura 28.

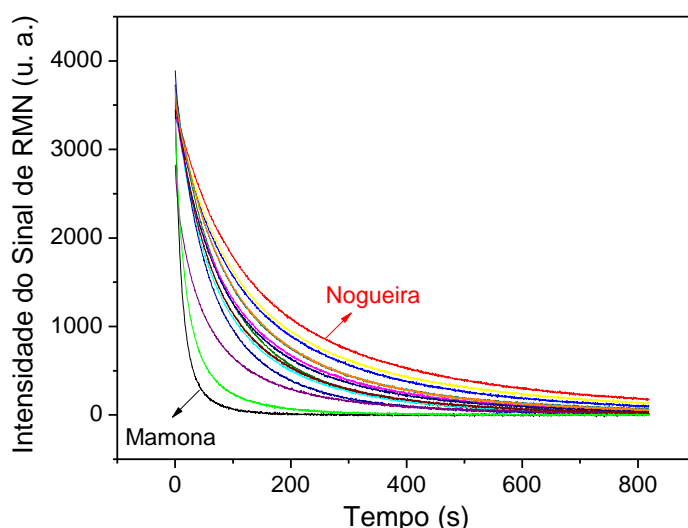


Figura 28. Sinais de decaimento obtidos por CPMG para as quinze amostras de óleos vegetais.

Na Figura 28, o maior valor de T_2 do óleo de noqueira (curva em vermelho) indica sua menor viscosidade que é devida seu alto percentual de ácidos graxos poli-insaturados, linoleico (C18:2) e linolênico (C18:3), 38,1 e 18,1%, respectivamente. Já o óleo de mamona (curva em preto), com o menor valor de T_2 , é o mais viscoso, uma consequência da presença de 86,0% de ácido ricinoleico (C18:1-OH) em sua composição. A presença da hidroxila no carbono 12 deste ácido graxo aumenta as ligações de hidrogênio intermoleculares incrementando a viscosidade do óleo. Comparando as curvas de decaimento da soja e do amendoim na Figura 26, que apresentam composições químicas semelhantes, com os principais ácidos graxos apresentando 18 átomos de carbono, as diferenças de

viscosidade são devidas ao grau de insaturação. A soja é mais rica em ácido linoleico (C18:2), apresentando maior valor de T_2 e menor viscosidade, enquanto o amendoim é rico em ácido oleico (C18:1), possuindo menor T_2 e maior viscosidade.

Os valores de T_2 dos óleos vegetais também podem ser correlacionados aos valores de viscosidade, índices de cetano e de iodo dos biodieseis produzidos a partir dessas mesmas matrizes. Para realização deste procedimento, tais parâmetros foram previstos de acordo com as Equações 18, 19 e 20, baseando-se nas composições em ácidos graxos dos óleos vegetais exibidos na Tabela 5 e nos dados da Tabela 4.

Os resultados obtidos, bem como os valores de T_2 obtidos a partir de um ajuste monoexponencial das curvas de decaimento expostas na Figura 28, são expostos na Tabela 13. Já as curvas de correlação entre os valores de T_2 com as viscosidades, índices de cetano e de iodo são exibidas na Figura 29. A viscosidade e os índices de cetano e iodo do biodiesel de munguba não foram previstos porque sua composição total em ácidos graxos ficou muito distante de 100% (vide Tabela 5). Da mesma forma, a viscosidade do biodiesel de tungue não foi prevista porque a viscosidade do ácido α -eleosteárico, seu constituinte majoritário, não foi encontrada em literatura. Além disso, nas curvas de correlação da Figura 29, não foram adicionados os pontos relacionados às amostras de babaçu, mamona e tungue, uma vez que, a composição em ácidos graxos dessas matrizes é muito diferente das demais. Ambas apresentam em sua composição um componente majoritário que é ausente nas outras matrizes, o que diminuiria consideravelmente o coeficiente de correlação das curvas. Conforme já foi demonstrado, a correlação de T_2 com parâmetros de qualidade dos biodieseis aumenta quando a composição em ácidos graxos dos mesmos é semelhante, ou seja, os ácidos graxos majoritários apresentam mesmo número de carbonos e a diferença está no número das insaturações.¹⁴

Através da Figura 29a confirma-se mais uma vez a correlação inversa existente entre os valores de T_2 e a viscosidade cinemática de óleos vegetais e biodieseis. Além disso, os coeficientes de correlação das curvas nas Figuras 29b (0,64) e 29c (0,63), aliados à sua característica decrescente ou crescente, evidenciam a correlação inversa existente entre T_2 e índice de cetano e a correlação

direta entre os valores de T_2 e índice de iodo, respectivamente.

Tabela 13. Constantes de relaxação transversal (T_2) das quinze amostras de óleo vegetal analisadas no Maran e os valores previstos de viscosidade, índice de cetano e índice de iodo dos biodieseis produzidos a partir dessas matrizes.

Oleaginosa	T_2 (s)	Viscosidade (mm^2/s)	Índice de Cetano (u. a.)	Índice de Iodo (u. a.)
Amendoim	0,095	4,36	49,1	106,9
Babaçu	0,100	2,90	63,5	16,2
Canola	0,092	4,15	45,6	124,7
Cutieira	0,140	3,96	41,7	141,9
Dendê	0,077	4,42	59,8	57,4
Girassol	0,114	3,98	41,5	142,2
Linhaça	0,141	3,50	26,1	210,2
Mamona	0,016	12,48	56,0	87,7
Milho	0,107	4,07	45,2	125,4
Munguba	0,076	-	-	-
Nabo Forrageiro	0,094	4,65	48,1	118,0
Nogueira de Iguape	0,159	3,78	35,8	167,2
Pinhão Manso	0,118	4,18	50,2	103,6
Soja	0,122	4,00	43,3	133,7
Tungue	0,031	-	18,2	242,4

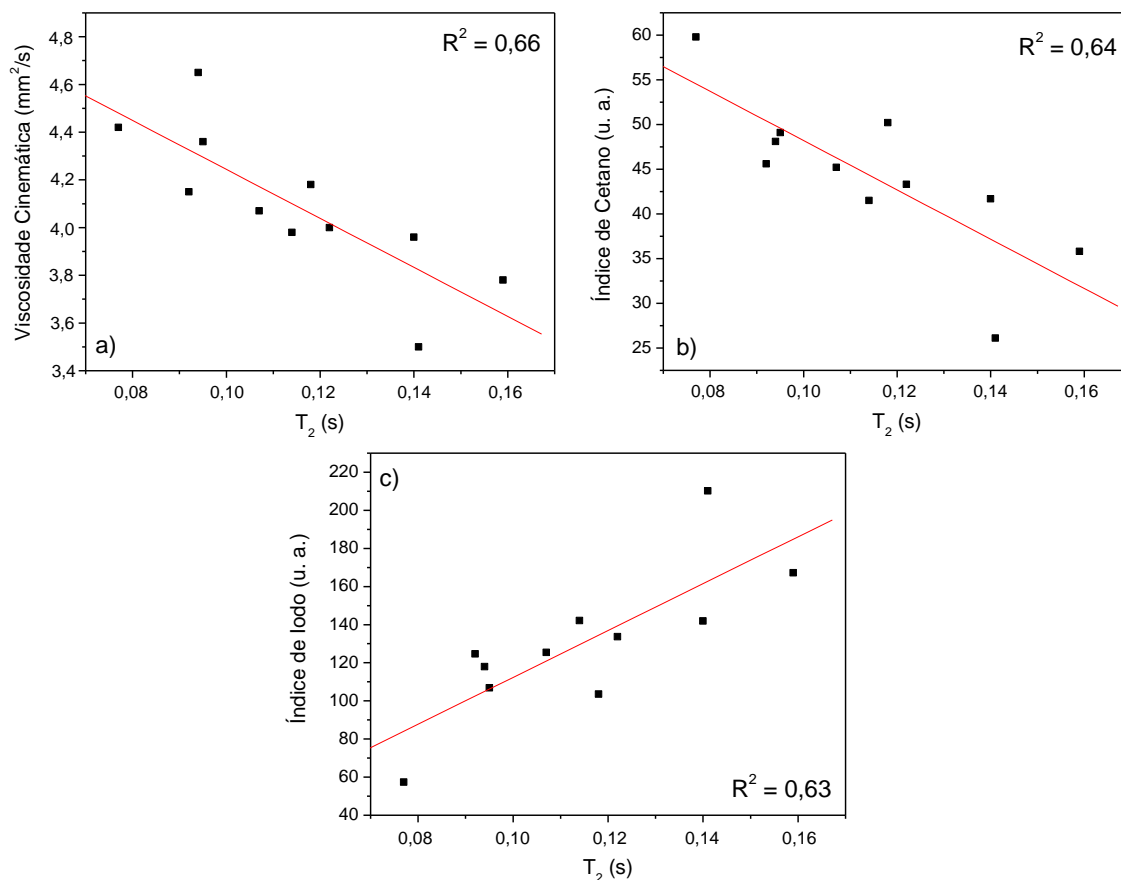


Figura 29. Curvas de correlação entre os valores de T_2 dos óleos vegetais e os respectivos parâmetros de qualidade dos biodieseis produzidos a partir deles: a) viscosidade cinemática; b) índice de cetano; c) índice de iodo.

Os índices de cetano e de iodo também estão relacionados com a composição em ácidos graxos dos óleos vegetais. Como o índice de cetano apresenta a mesma tendência da viscosidade – aumenta com o aumento da cadeia dos ácidos graxos e, para ácidos graxos com mesmo tamanho de cadeia, o aumento do grau de insaturações diminui o índice – de uma forma geral os óleos vegetais com maiores valores de CN também são os mais viscosos, ou seja, seus menores valores de T_2 são devidos aos seus altos valores de tempo de correlação (τ_c). Já para o índice de iodo a tendência é contrária a da viscosidade – o índice de iodo aumenta com o aumento do número de insaturações. Logo, os óleos vegetais com maiores valores de IN são menos viscosos, apresentando menores valores de τ_c e maiores valores de T_2 .

4.2.2 Análises Quimiométricas dos dados obtidos por CPMG

Depois da demonstração da relação existente entre os valores de T_2 e parâmetros de qualidade de biodiesel, os dados adquiridos no Maran, com aplicação da sequência de CPMG, para as amostras de óleo vegetal, bem como para as amostras de sementes intactas, foram analisados por métodos quimiométricos.

4.2.2.1 Amostras de Óleos Vegetais

O dendograma e o gráfico de escores obtidos pelas análises de HCA e PCA são exibidos nas Figuras 30 e 31, respectivamente. No gráfico de escores a divisão dos grupos foi realizada com base nos *clusters* gerados por HCA. Em tais figuras, os números representam as amostras de acordo com a classificação da Tabela 14.

Tabela 14. Classificação das amostras de óleo vegetal para as análises quimiométricas.

Matriz Oleaginosa	Classificação
Amendoim	1
Babaçu	2
Canola	3
Cutieira	4
Dendê	5
Girassol	6
Linhaça	7
Mamona	8
Milho	9
Munguba	10
Nabo Forrageiro	11
Nogueira de Iguape	12
Pinhão Manso	13
Soja	14
Tungue	15

Verifica-se a partir do dendograma, que com um grau de similaridade de 46,6% são formados 4 grupos distintos de matrizes oleaginosas. O gráfico de escores confirma a divisão dos grupos e ressalta-se que a soma das duas primeiras componentes principais (PC_1 e PC_2) corresponde a 99,5% de variância acumulativa do modelo, sendo 94,2% de PC_1 e 5,3% de PC_2 .

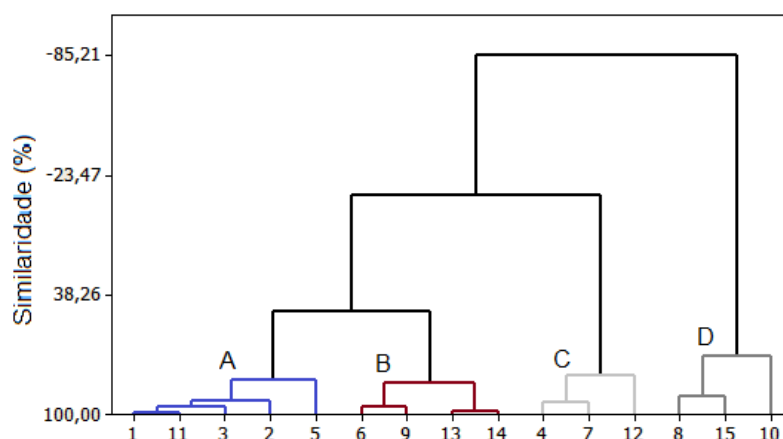


Figura 30. Dendrograma resultante da análise de HCA dos dados obtidos por CPMG.

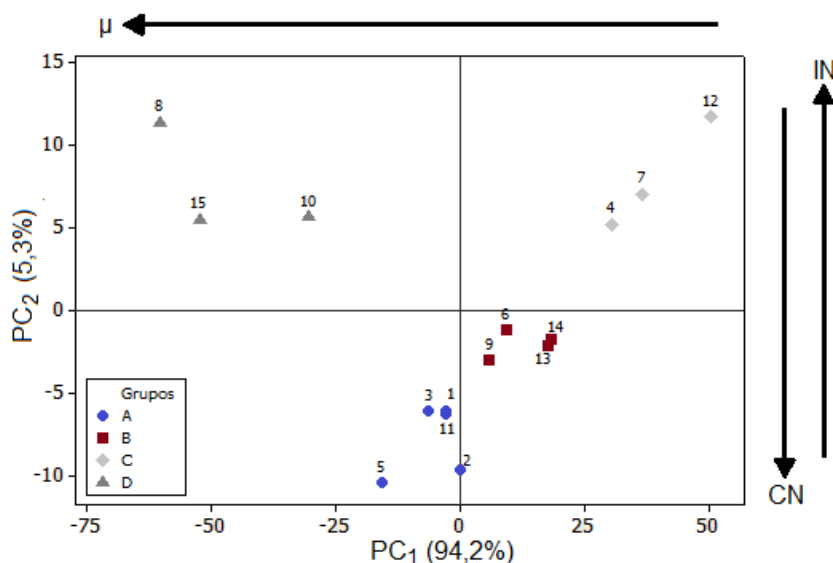


Figura 31. Gráfico de escores resultante da análise de PCA dos dados obtidos por CPMG.

Essa divisão de grupos pode ser diretamente relacionada à qualidade dos óleos vegetais. Isso porque, T_2 é altamente correlacionado aos valores de PC_1 , conforme pode ser verificado através da curva exibida na Figura 32, que apresenta $R^2 = 0,98$. Sendo assim, como T_2 tem correlação com a composição em ácidos graxos dos óleos e consequentemente com parâmetros de qualidade dos biodieseis produzidos a partir deles, PC_1 também terá.

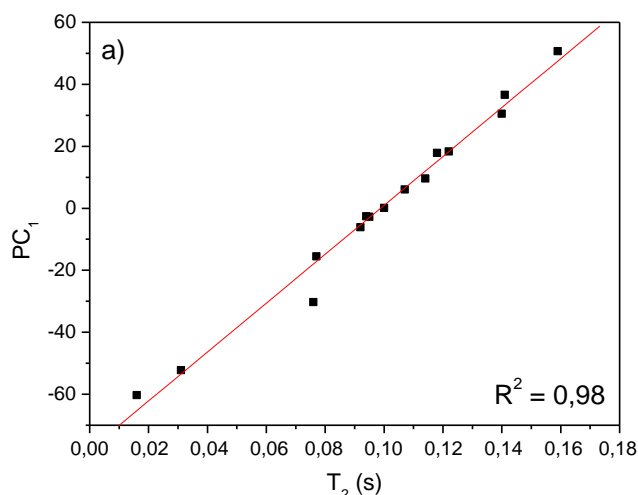


Figura 32. Curva de correlação entre os valores de T_2 das quinze amostras de óleo vegetal e seus valores de PC1.

O sentido da tendência de aumento dos parâmetros de qualidade dos biodieseis – viscosidade cinemática (μ), índice de cetano (CN) e índice de iodo (IN) – de acordo com o posicionamento das matrizes oleaginosas no gráfico de escores, também é apresentado na Figura 31. Verifica-se, entretanto, que o posicionamento das matrizes do Grupo D não se enquadra nas tendências de aumento dos índices de cetano e iodo.

No Grupo A (azul) estão presentes as matrizes que apresentam elevados teores de ácido oleico: amendoim, canola, dendê e nabo forrageiro. Este ácido graxo confere aos biodieseis, originados dessas matrizes, viscosidades adequadas, baixos índices de iodo e elevados índices de cetano.¹⁴ No mesmo grupo encontra-se o babaçu que é rico em ácido láurico. Esse ácido graxo, por possuir cadeia mais curta e saturada, também apresenta viscosidade adequada, baixo índice de iodo e alto índice de cetano, entretanto, ele apresenta maior possibilidade de se solidificar durante o armazenamento e uso do biocombustível.¹⁷

As matrizes do Grupo B (marrom), girassol, milho, soja e pinhão manso, apresentam menor proporção de ácido oleico do que as do Grupo A, porém são compostas por uma maior concentração de ácido linoleico. Sendo assim, os biodieseis provenientes das matrizes do Grupo B serão menos viscosos e apresentarão maiores índices de iodo e menores índices de cetano do que os oriundos do Grupo A.

Cutieira, linhaça e noqueira de iguape constituem o Grupo C (cinza claro): as matrizes com menor viscosidade. Ambas apresentam elevado teor de ácidos graxos poli-insaturados, linoleico (C18:2) e/ou linolênico (C18:3). Apesar da baixa viscosidade originada pela composição relativa desses ácidos graxos, o alto grau de insaturação eleva muito os índices de iodo e baixa consideravelmente os índices de cetano das matrizes.

O Grupo D (cinza escuro) é formado pelas matrizes oleaginosas mais viscosas: mamona, munguba e tungue. Conforme já mencionado anteriormente, a elevada viscosidade da mamona é devida seu alto percentual de ácido ricinoleico, que é ausente nas demais matrizes. Nesse mesmo sentido, o tungue apresenta elevado teor de ácido α -eleosteárico (82,2%) que confere a alta viscosidade e também é ausente nas demais matrizes. Já a munguba apresenta elevado teor de ácido palmítico, 68,3%.

Com relação à composição do óleo de tungue, vale ressaltar que o α -eleostearato, apesar de apresentar três insaturações em sua estrutura, assim como o linoleato, exibe alta viscosidade porque suas duplas ligações são conjugadas e duas delas apresentam configuração E (trans). São esses fatores que proporcionam uma maior interação intermolecular entre os elétrons π , aumentando a viscosidade.^{17,59} A Figura 33 apresenta as estruturas químicas do linoleato e do α -eleostearato para facilitar a comparação.

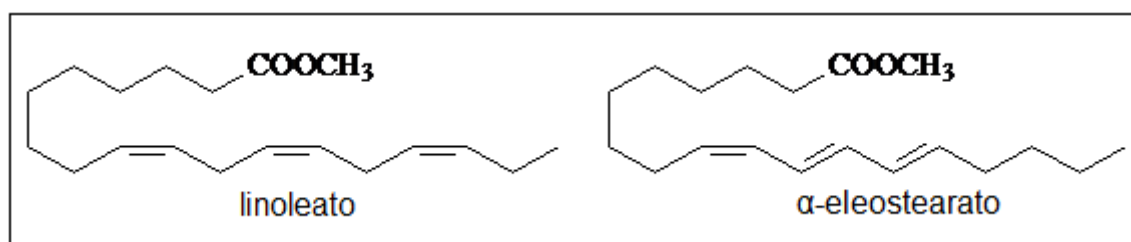


Figura 33. Estruturas químicas do linoleato e do α -eleostearato de metila.

A partir dos resultados obtidos até então, o método de RMN de ^1H pode ser utilizado como ferramenta na escolha de novas matrizes que sejam adequadas para a produção de biodiesel. Neste sentido, as avaliações devem levar em consideração não somente o teor e a qualidade do óleo presente nas sementes, mas também fatores como geografia, clima, economia e desenvolvimento social.⁵ Isso porque,

fatores como alta viscosidade do biodiesel, por exemplo, podem ser contornados no processo de mistura com o diesel ou até mesmo na mistura com outros biodieseis de viscosidade menores.⁶⁰

4.2.2.2 Amostras de Sementes Intactas

Assim como as amostras de óleo vegetal, os sinais de CPMG de sementes intactas também podem ser analisados por quimiometria, originando resultados muito semelhantes. As matrizes oleaginosas selecionadas para esta etapa de estudos são informadas na Tabela 15 e seus respectivos sinais de decaimento são exibidos na Figura 34.

Tabela 15. Sementes intactas selecionadas para análise.

Matriz Oleaginosa	Classificação
Amendoim	1
Canola	3
Cutieira	4
Dendê	5
Girassol	6
Linhaça	7
Mamona	8
Munguba	10
Nabo Forrageiro	11
Pinhão Manso	13
Soja	14
Café	16
Crambe	17
Moringa	18

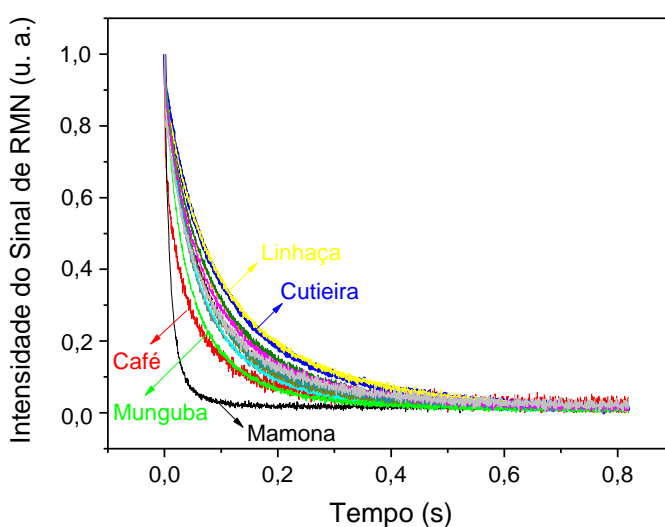


Figura 34. Sinais de CPMG normalizados para as amostras de sementes intactas.

As curvas com decaimentos mais rápidos são da mamona (curva em preto), do café (curva em vermelho) e da munguba (curva em verde), as amostras mais

viscosas. Já as curvas com decaimentos mais lentos são da linhaça (curva em amarelo) e da cutieira (curva em azul), as amostras menos viscosas.

O dendograma e o gráfico de escores resultantes das análises de HCA e PCA dos dados obtidos por CPMG são apresentados nas Figuras 35 e 36, respectivamente. No gráfico de escores a divisão dos grupos foi realizada com base nos *clusters* gerados por HCA. Em tais figuras, os números representam as amostras de acordo com a classificação da Tabela 15. Como o universo de sementes intactas estudadas não é o mesmo das amostras vegetais analisadas anteriormente, na classificação sementes que já tinham sido analisadas através de seus óleos vegetais permaneceram com mesma numeração e novas sementes ganharam numerações distintas das que já haviam sido utilizadas.

No dendograma, com um grau de similaridade de 43,2% são formados os 4 grupos de matrizes oleaginosas. O gráfico de escores confirma a divisão dos grupos e a soma das duas primeiras componentes principais (PC_1 e PC_2) corresponde a 97,3% de variância acumulativa do modelo, sendo 90,9% de PC_1 e 6,4% de PC_2 .

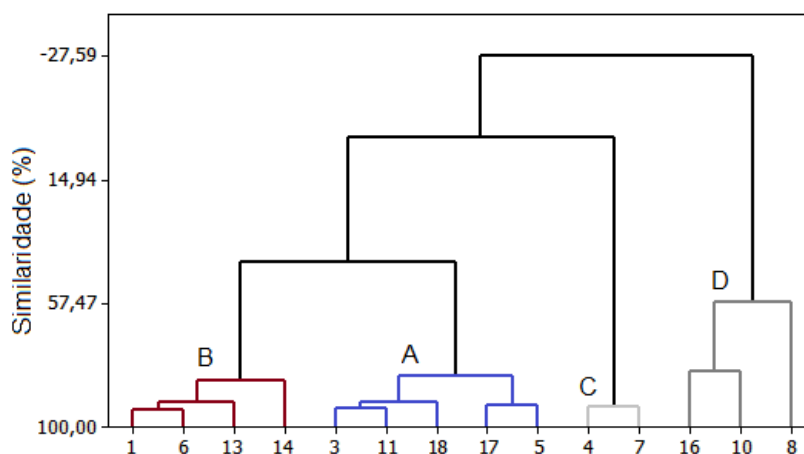
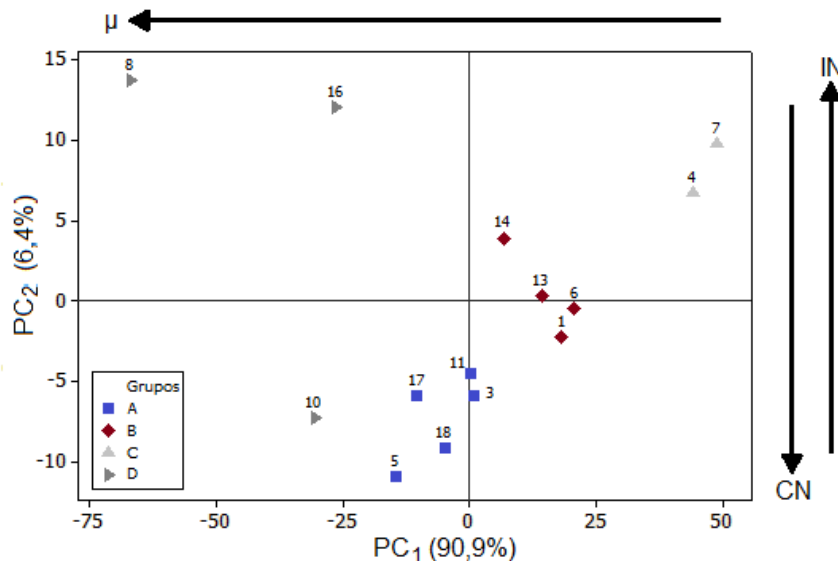


Figura 35. Dendograma resultante da análise de HCA dos dados obtidos por CPMG para as amostras de sementes intactas.

No gráfico de escores (Figura 36) também é apresentado o sentido da tendência de aumento dos parâmetros de qualidade dos biodieseis. Novamente o posicionamento das matrizes do Grupo D não se enquadra nas tendências de aumento dos índices de cetano e iodo.



apresentados na Figura 37. Com relação ao sinal de CWFP, confirma-se que ele passa por dois estados transientes antes de alcançar o estado estacionário (EE), onde não há variação na amplitude do sinal. No primeiro estado há uma alternância na amplitude do sinal entre pulsos ímpares e pares. Nesse estágio a curva de decaimento do sinal depende de T_2^* . Quando as amplitudes dos sinais gerados pelos pulsos ímpares e pares se igualam em um valor intermediário, o segundo estado transiente é alcançado, o estado quase estacionário (EQE). O decaimento exponencial do EQE é mais lento e é dominado por T^* , uma constante que depende de T_1 e T_2 . Após, aproximadamente, $5T^*$, o sinal atinge o estado estacionário.

Podem-se confirmar também, as similaridades e diferenças do sinal CP-CWFP com o sinal CWFP. Após a alternância de amplitude entre pulsos ímpares e pares, o sinal CP-CWFP atingiu um valor mínimo e não intermediário. Depois desse decaimento abrupto a intensidade do sinal começou a aumentar, passando pelo EQE, que também é governado por T^* , até atingir o estado estacionário. A amplitude do sinal no EE é a mesma nos dois sinais. Para a amostra de canola, por exemplo, a amplitude no EE foi de, aproximadamente, $8,5 \times 10^4$.

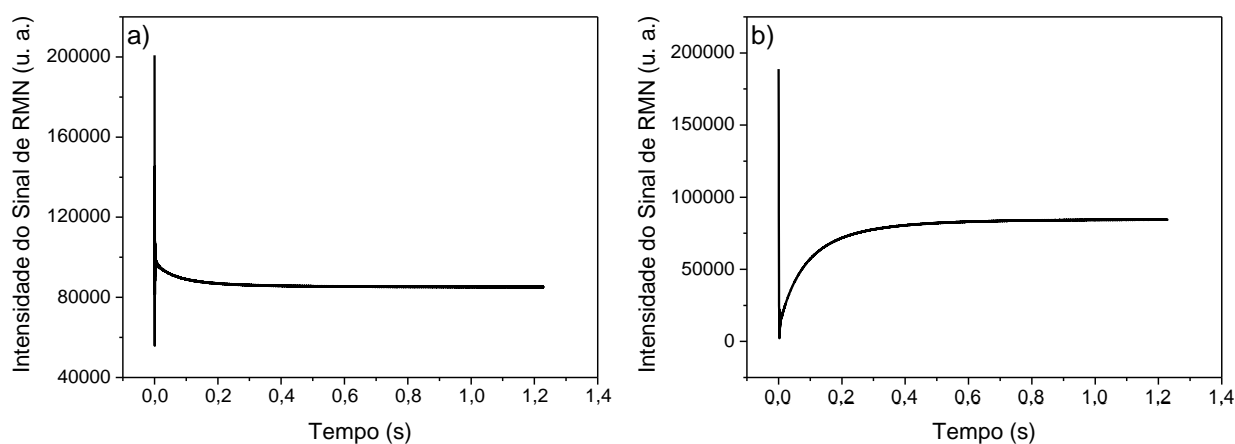


Figura 37. Sinais de CWFP (a) e CP-CWFP (b) adquiridos no Tecmag para a amostra de canola.

Na Figura 38, em um mesmo gráfico, são expostos os sinais CWFP e CP-CWFP adquiridos para a amostra de dendê. Dessa forma, o estudo comparativo entre essas sequências fica mais evidente. A sobreposição dos sinais na região de estado estacionário, por exemplo, confirma que a amplitude dos sinais é a mesma nessa região.

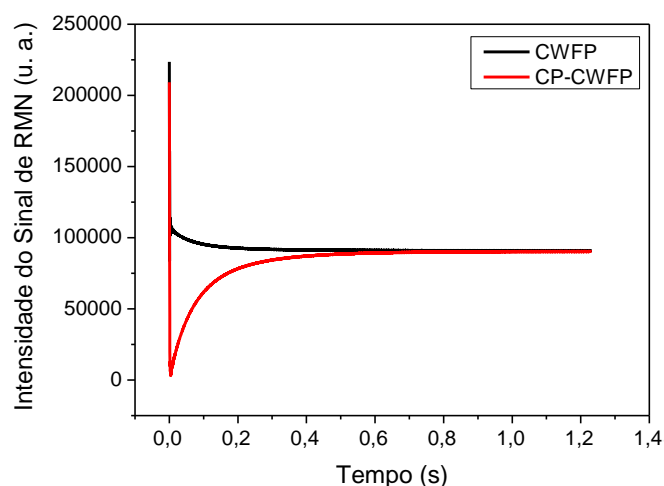


Figura 38. Sinais de CWFP e CP-CWFP adquiridos no Tecmag para a amostra de dendê.

Os sinais de CWFP e CP-CWFP das quinze amostras de óleos vegetais analisadas no Tecmag são apresentados na Figura 39. Nessa figura pode-se observar que os sinais da amostra de mamona (curvas em preto) decaem mais rapidamente, tanto com aplicação da sequência de CWFP quanto com aplicação de CP-CWFP. Depois da amostra de mamona os sinais de CWFP e CP-CWFP com decaimento mais rápido são do tungue (curvas em vermelho) e da munguba (curvas em azul), nessa ordem. Essas três amostras, por apresentarem os menores valores de T^* , acabam sendo destacadas das demais nos gráficos. As outras amostras apresentam curvas de decaimentos semelhantes, ficando posicionadas em mesmas regiões dos dois gráficos, quase se sobrepondo, o que impede que haja o destaque de alguma delas.

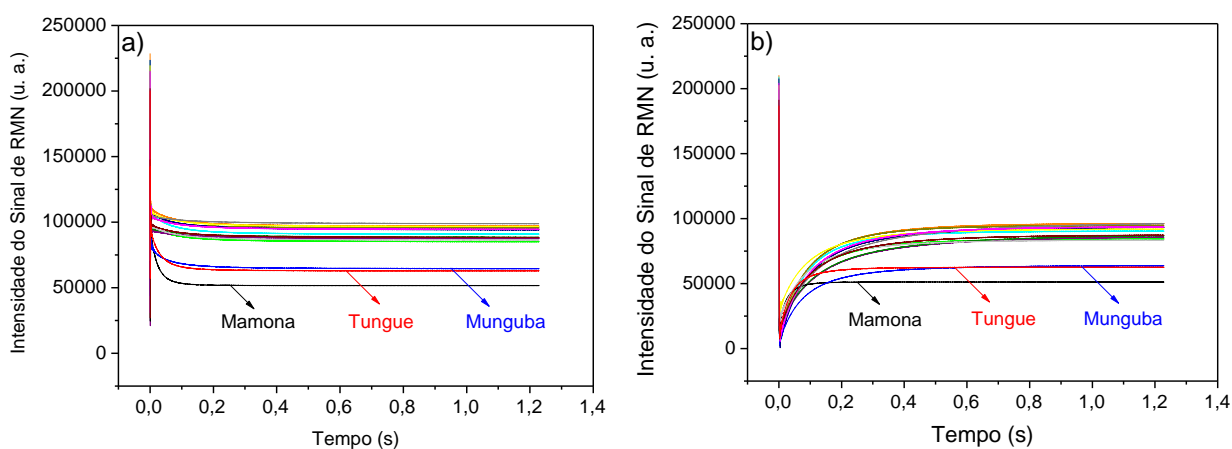


Figura 39. Sinais de CWFP (a) e CP-CWFP (b) adquiridos no Tecmag para as quinze amostras de óleo vegetal.

Com base nos sinais da Figura 39, as constantes de decaimento dos EQE (T^*) foram obtidas a partir de um ajuste monoexponencial das curvas. E, após a obtenção de T^* , os valores de T_1 e T_2 foram calculados de acordo com as Equações 12 e 13. Os valores resultantes, bem como os valores de T_2 obtidos por CPMG em análises também realizadas no Tecmag, são exibidos na Tabela 16.

Tabela 16. Valores de T^* , T_1 e T_2 , das quinze amostras de óleo vegetal, obtidos a partir dos sinais de CWFP e CP-CWFP.

Oleaginosa	T_2 (s) ^a	CWFP			CP-CWFP		
		T^* (s)	T_1 (s)	T_2 (s)	T^* (s)	T_1 (s)	T_2 (s)
Amendoim	0,094	0,078	0,092	0,068	0,122	0,133	0,112
Babaçu	0,098	0,083	0,093	0,075	0,120	0,127	0,114
Canola	0,092	0,082	0,097	0,071	0,121	0,135	0,110
Cutieira	0,138	0,124	0,136	0,114	0,169	0,180	0,160
Dendê	0,079	0,069	0,085	0,058	0,106	0,123	0,093
Girassol	0,105	0,087	0,103	0,075	0,135	0,150	0,123
Linhaça	0,147	0,118	0,130	0,108	0,173	0,173	0,173
Mamona	0,016	0,023	0,044	0,016	0,044	0,080	0,030
Milho	0,097	0,084	0,095	0,075	0,126	0,139	0,115
Munguba	0,081	0,055	0,076	0,043	0,118	0,156	0,095
Nabo	0,094	0,079	0,091	0,070	0,123	0,137	0,111
Nogueira	0,148	0,106	0,115	0,098	0,177	0,184	0,171
Pinhão	0,105	0,094	0,107	0,084	0,136	0,148	0,126
Soja	0,107	0,100	0,114	0,089	0,138	0,151	0,127
Tungue	0,032	0,033	0,053	0,024	0,060	0,090	0,045

^a Obtidos por CPMG.

Através da Figura 40 pode ser verificada a correlação existente entre os valores de T^* (constante de decaimento do sinal no EQE – exibidos na Tabela 16) obtidos por CWFP e CP-CWFP para as amostras de óleo vegetal. O coeficiente de correlação da curva foi de 0,92, demonstrando que os valores de T^* adquiridos pelas duas sequências apresentam mesma dependência em relação aos tempos de relaxação longitudinal (T_1) e transversal (T_2).

Nesse sentido, a Figura 41 demonstra a correlação existente entre os valores de T_1 (Figura 39a) e T_2 (Figura 39b) obtidos por CWFP e CP-CWFP, apresentados na Tabela 16, para as amostras de óleo. Os coeficientes de correlação das curvas, 0,81 e 0,94, respectivamente, confirmam mais uma vez que a constante de decaimento no estado quase estacionário, quando ambas as sequências são aplicadas, é dependente de T_1 e T_2 . Vale destacar que os valores calculados por CP-CWFP, tanto para T_1 quanto para T_2 , são proporcionalmente maiores aos calculados por CWFP devida a maior amplitude do sinal no EQE quando CP-CWFP é aplicada.

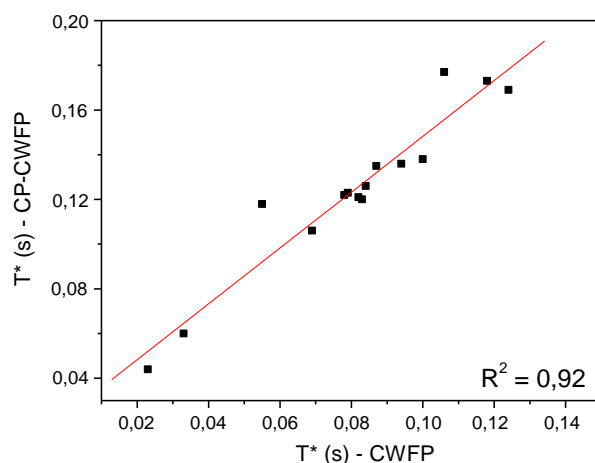


Figura 40. Correlação entre os valores de T^* obtidos por CWFP e CP-CWFP para as quinze amostras de óleo vegetal.

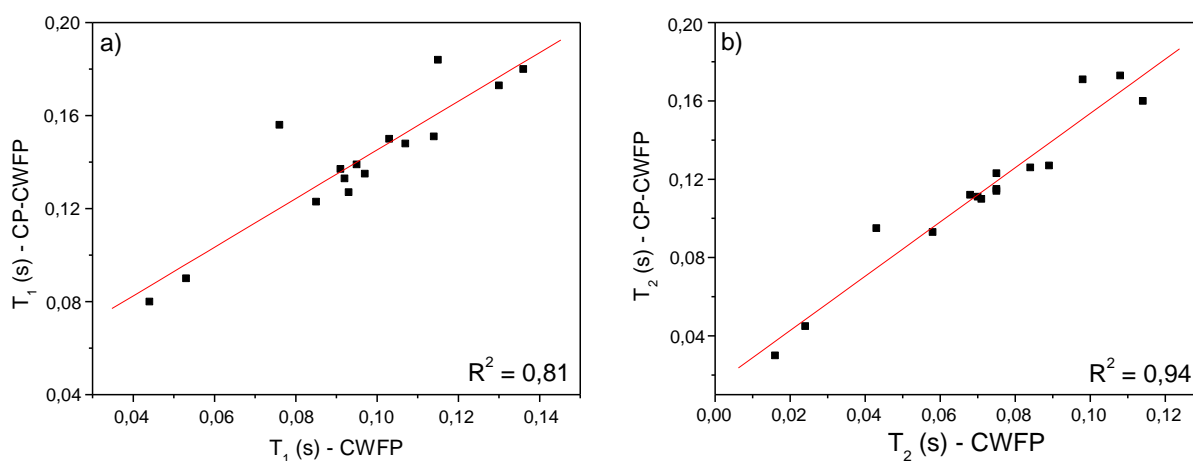


Figura 41. Correlação entre os valores de T_1 (a) e T_2 (b) obtidos por CWFP e CP-CWFP para as quinze amostras de óleo vegetal.

Apesar dos valores de T_2 calculados por CWFP e CP-CWFP para as amostras de óleo vegetal terem sido diferentes dos calculados por CPMG, vide Tabela 16, existe uma alta correlação entre eles. A Figura 42 demonstra essa correlação, onde a curva (a) apresenta R^2 de 0,93 e a curva (b) de 0,99. Dessa forma, análises por CWFP e CP-CWFP não podem ser utilizadas em determinações precisas de T_2 e T_1 , entretanto, para análises qualitativas e comparativas os valores são satisfatórios.

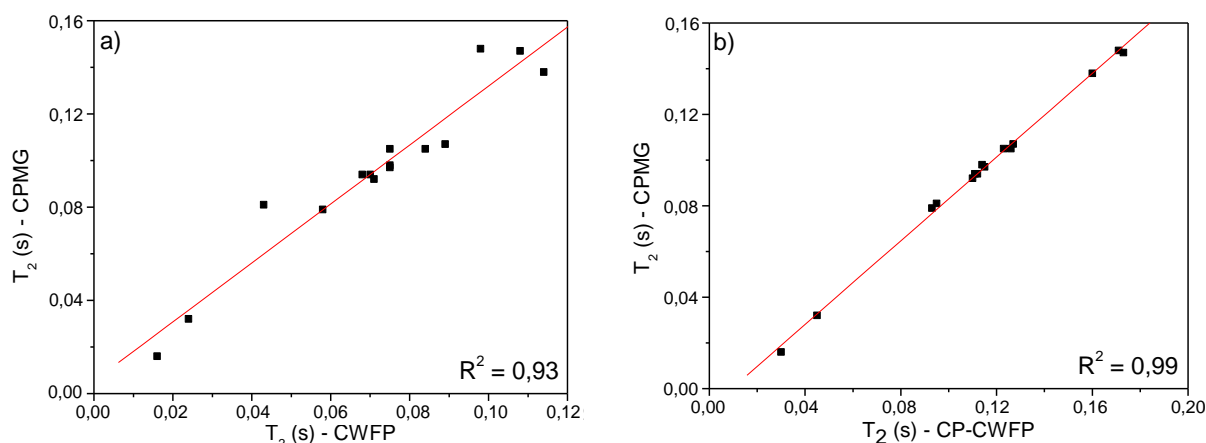


Figura 42. Correlação entre os valores de T_2 , das quinze amostras de óleo vegetal, obtidos por: a) CWFP e CPMG; b) CP-CWFP e CPMG.

4.2.3.1 Estudos Quimiométricos dos dados obtidos por CWFP e CP-CWFP

O dendograma e o gráfico de escores resultantes das análises de HCA e PCA dos dados obtidos por CWFP são apresentados nas Figuras 43 e 44, respectivamente. No gráfico de escores a divisão dos grupos foi realizada com base nos *clusters* gerados por HCA. Em tais figuras, os números representam as amostras de acordo com a classificação da Tabela 14 (p. 75).

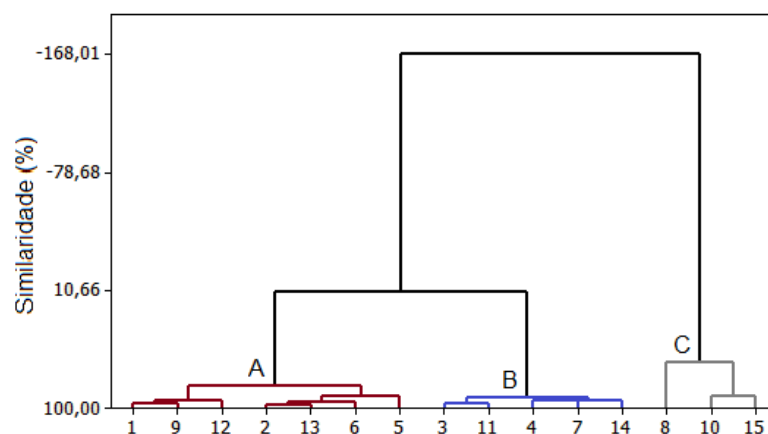


Figura 43. Dendograma resultante da análise de HCA dos dados obtidos por CWFP.

No dendograma apresentado, os 3 grupos de matrizes oleaginosas formados apresentam uma similaridade muito pequena, 11,7%. Já com relação à análise de PCA, a soma das duas primeiras componentes principais (PC_1 e PC_2) corresponde a 97,7% de variância acumulativa do modelo, sendo 76,0% de PC_1 e 21,7% de PC_2 .

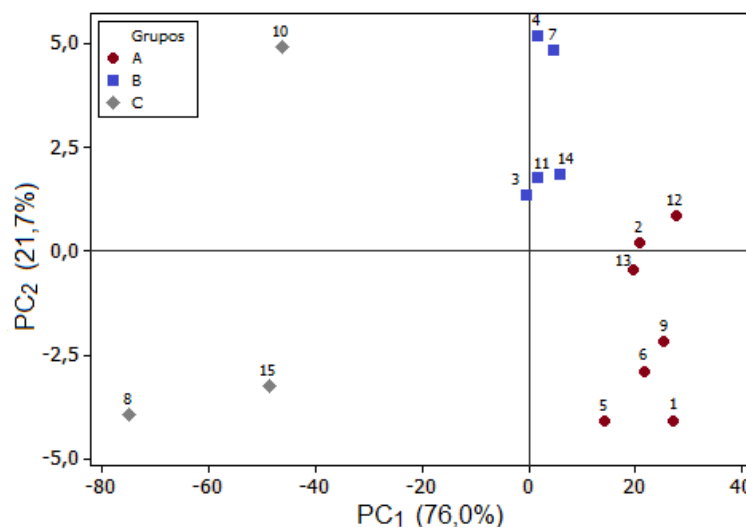


Figura 44. Gráfico de escores resultante da análise de PCA dos dados obtidos por CWFP.

Tanto a divisão de grupos resultante da análise de HCA quanto a disposição das amostras no gráfico de escores parece não ter relação com os parâmetros de qualidade dos óleos vegetais. Com exceção do Grupo C (cinza), que é formado pelas matrizes mais viscosas (mamona, munguba e tungue), os outros dois grupos são compostos por matrizes com diferentes características de viscosidade, índice de cetano e índice de iodo. Além disso, amostras com características semelhantes não ficaram posicionadas no mesmo grupo. A noqueira de iguape, por exemplo, que compõe junto com a cutieira e a linhaça o grupo de amostras menos viscosas, ficou em um grupo distinto destas duas. Isso ocorre porque a curva de decaimento do sinal de CWFP não depende somente de T_2 , mas também de T_1 . Dessa forma, as correlações das componentes principais com os valores de T_2 calculados por CWFP são praticamente inexistentes, conforme pode ser verificado a partir da Figura 45.

O valor da magnetização no estado estacionário (M_{EE}) é que tem alta correlação com os valores da primeira componente principal. Isso fica evidente a partir da curva de correlação entre os valores de M_{EE} e PC_1 , exibida na Figura 46, que apresenta coeficiente de correlação de 0,99. Sendo assim, este parâmetro que é o maior responsável pela divisão de grupos.

O fato dos dados gerados por CWFP não se corresponderem somente com T_2 justifica as diferenças encontradas entre os dendogramas e os gráficos de escores gerados a partir do uso desta sequência e os gerados a partir da aplicação de CPMG.

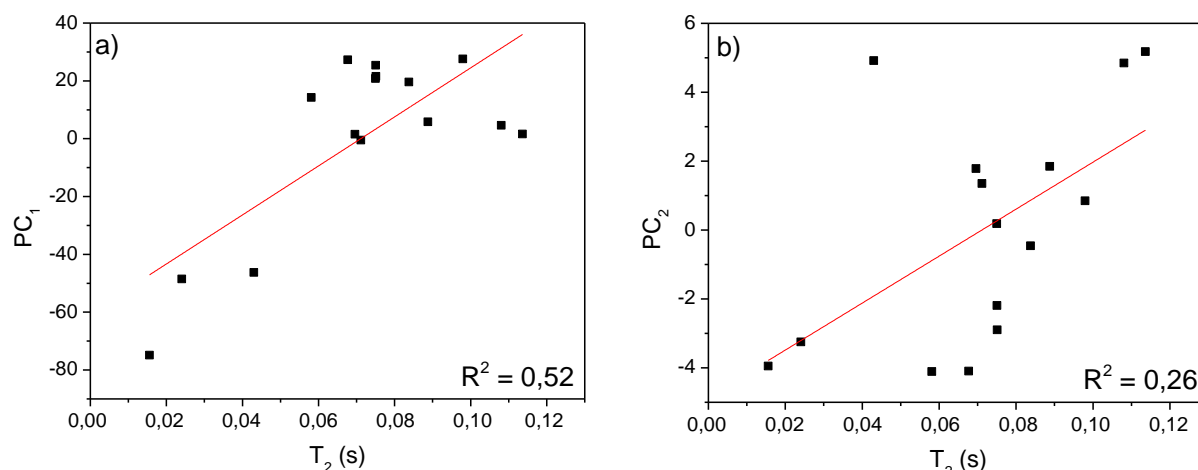


Figura 45. Curvas de correlação entre os valores de T_2 calculados por CWFP para as quinze amostras de óleo vegetal e os valores de PC_1 (a) e PC_2 (b) das mesmas amostras.

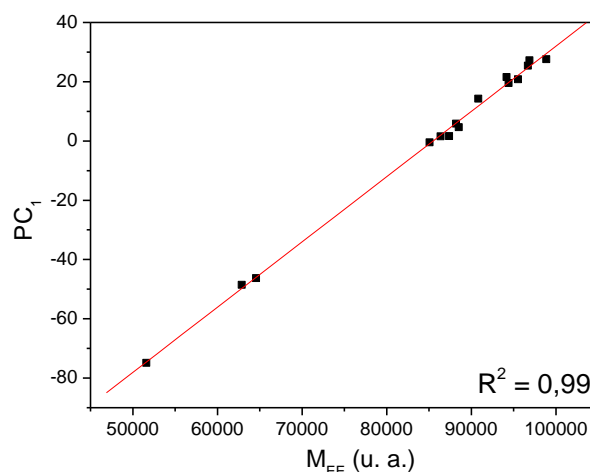


Figura 46. Curva de correlação entre os valores de M_{EE} dos sinais de CWFP e os valores de PC_1 .

Os dados adquiridos por CP-CWFP também foram analisados por HCA e PCA, sendo que o dendograma e o gráfico de escores resultantes dessas análises são expostos nas Figuras 47 e 48, respectivamente. Os resultados foram muito semelhantes aos encontrados por CWFP. No dendograma, os 3 grupos de matrizes oleaginosas formados também apresentam uma similaridade muito pequena, 11,6%. Já na análise de PCA, a soma das duas primeiras componentes principais (PC_1 e PC_2) é igual à obtida por CWFP, correspondendo a 97,7% de variância acumulativa do modelo, onde 76,0% é relativo a PC_1 e 21,7% a PC_2 .

Mais uma vez a divisão de grupos resultante da análise de HCA e a disposição das amostras no gráfico de escores não teve relação com os parâmetros de qualidade dos óleos vegetais. Entretanto, os grupos formados não foram exatamente iguais aos das análises de CWFP, com exceção do Grupo C (cinza), o

grupo das matrizes mais viscosas. As amostras menos viscosas, por exemplo, passaram a fazer parte de um mesmo grupo. Essas diferenças entre CP-CWFP e CWFP ocorrem porque, apesar das similaridades entre as sequências, os sinais de CP-CWFP das amostras de óleo apresentaram uma maior amplitude na região do estado quase estacionário (EQE) do que os sinais adquiridos por CWFP.

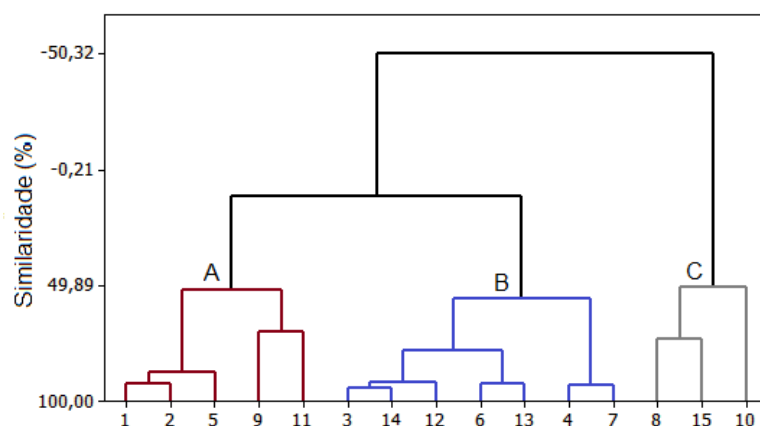


Figura 47. Dendrograma resultante da análise de HCA dos dados obtidos por CP-CWFP.

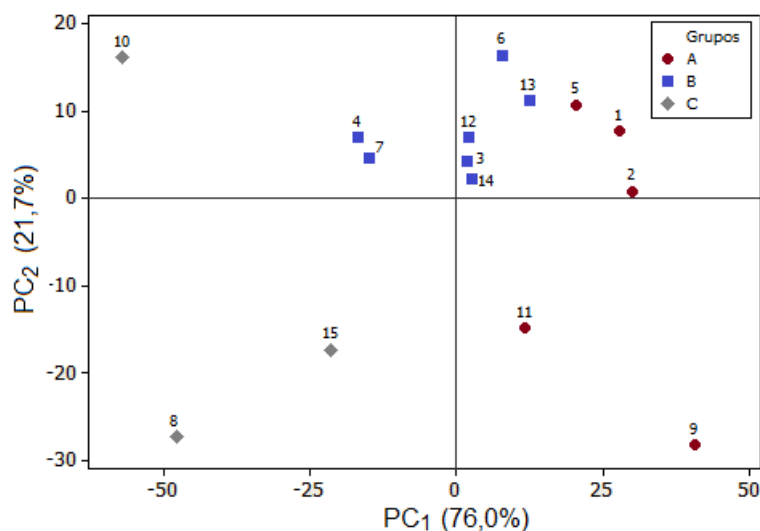


Figura 48. Gráfico de escores resultante da análise de PCA dos dados obtidos por CWFP.

Assim como na sequência de CWFP, o sinal de CP-CWFP também depende de T_1 , e não só de T_2 , por isso os grupos não foram formados apenas de acordo com as similaridades das amostras em termos de parâmetros de qualidade para produção de biodiesel. Contudo, apesar das correlações das componentes principais com os valores de T_2 calculados por CP-CWFP serem inexistentes, conforme pode ser verificado a partir da Figura 49, os grupos de oleaginosas gerados através do uso desta sequência, são mais semelhantes aos das análises por CPMG do que os

de CWFP foram. Por isso, a sequência de CP-CWFP se confirma como mais vantajosa do que a de CWFP para avaliação da qualidade de óleos vegetais em baixos campos magnéticos.

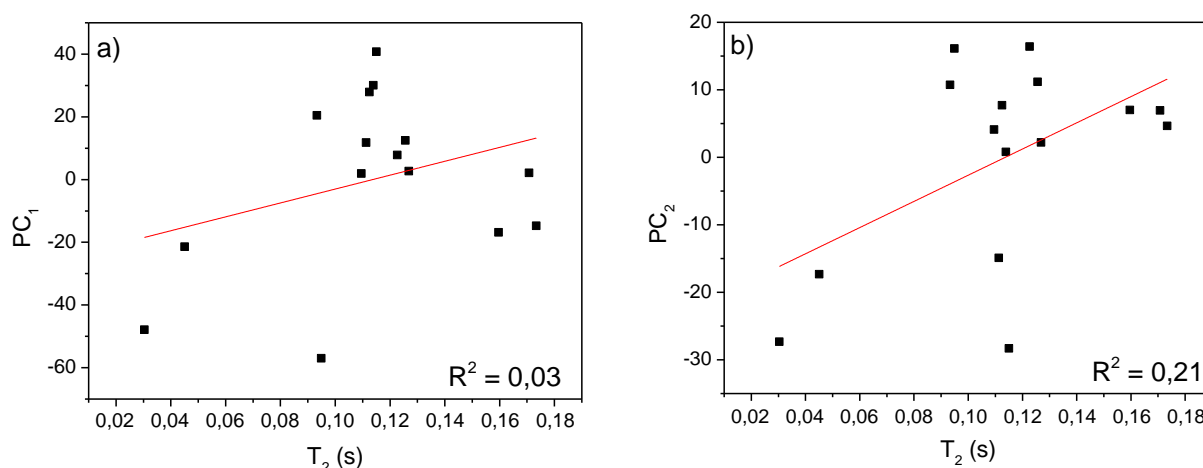


Figura 49. Curvas de correlação entre os valores de T_2 calculados por CP-CWFP para as quinze amostras de óleo vegetal e os valores de PC_1 (a) e PC_2 (b) das mesmas amostras.

Nas análises por CP-CWFP também são os valores das magnetizações no estado estacionário (M_{EE}) que apresentam correlação com os valores da primeira componente principal, conforme verificado a partir da Figura 50. A correlação não é tão alta quanto na análise por CWFP, entretanto o coeficiente de correlação da curva apresenta um valor considerável: 0,70.

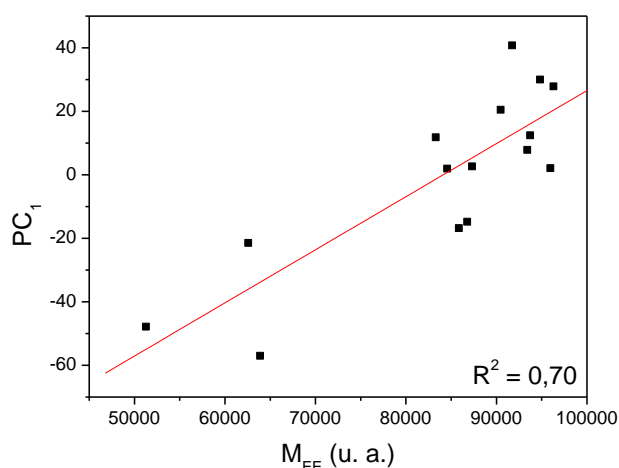


Figura 50. Curva de correlação entre os valores de M_{EE} dos sinais de CP-CWFP e os valores de PC_1 .

5. CONCLUSÃO

As análises de RMN de ^1H de baixo campo por pulso único, spin-eco e CPMG, mostraram serem métodos eficientes na determinação dos teores de lipídeos das sementes de matrizes oleaginosas, apresentando a vantagem de indicarem a quantidade real de óleo presente nas sementes e não só a quantidade que pode ser removida pelo método de extração por solvente. Nesse sentido, as análises por RMN de ^1H , com uso dessas três sequências de pulsos, também foram eficazes na previsão com boa precisão dos rendimentos dos processos de extração por solvente, através da correlação existente entre os dois métodos.

A aplicação da sequência de CPMG, para determinação do teor de lipídeos das sementes, ainda apresentou a vantagem de poder eliminar do processo de análise a etapa de desidratação das amostras.

Com relação aos experimentos conduzidos por CWFP, os teores de óleo encontrados não foram compatíveis com os das outras sequências para a maioria das matrizes, além disso, os valores apresentaram desvios padrões superiores. Outro ponto negativo foi a baixa correlação com o método de extração por solvente.

Os estudos por RMN de ^1H também confirmaram a correlação existente entre os dados obtidos por CPMG, representados por T_2 , e parâmetros de qualidade dos óleos. Nesse sentido as análises quimiométricas de agrupamentos hierárquicos (HCA) e de componentes principais (PCA), realizadas com esses dados, foram ferramentas importantes para discriminação dos grupos de oleaginosas de acordo com sua composição em ácidos graxos e, conseqüentemente, de acordo com seus parâmetros de viscosidade, índice de iodo e índice de cetano, que caracterizam a qualidade dos óleos.

No que tange às análises conduzidas por CWFP e CP-CWFP para avaliação da qualidade dos óleos vegetais, constatou-se que elas são eficazes na determinação de T_1 e T_2 em um único experimento. Entretanto, essas medidas são qualitativas. Verificou-se, ainda, que as análises por CP-CWFP são mais vantajosas por apresentarem uma maior variação da amplitude do sinal no estado quase estacionário (EQE).

Já as análises quimiométricas de HCA e PCA dos dados obtidos por CWFP e CP-CWFP não se mostraram interessantes, pois não diferenciaram os grupos de matrizes oleaginosas de acordo com suas qualidades para produção de biodiesel, com exceção de matrizes muito viscosas.

Assim, somando-se a vantagem de que a técnica de RMN de baixo campo é rápida e não destrutiva em relação às amostras, com a escolha da sequência de pulsos adequada essa técnica pode ser usada como ferramenta para auxiliar no processo de seleção de novas sementes oleaginosas como matéria-prima para a produção de biodiesel.

6. SUGESTÕES PARA ESTUDOS FUTUROS

De uma forma geral, a metodologia desenvolvida para análise do teor e da qualidade dos óleos pode ser utilizada com novas matrizes, tornando-se mais interessante para sementes não usuais.

Por ser mais rápido e não destrutivo, o método de determinação do teor de lipídeos nas sementes por RMN de ^1H de baixa resolução pode ser aplicado com frequência no laboratório, como um possível método de rotina.

Na avaliação da qualidade de óleos vegetais pode-se, ainda, correlacionar os pontos da curva de decaimento do sinal de RMN das amostras, obtida pela técnica de CPMG, com os parâmetros de qualidade do biodiesel através do método quimiométrico de regressão por mínimos quadrados parciais (PLS). A partir desse procedimento, os valores de CN (índice de cetano), μ (viscosidade cinemática) e IN (índice de iodo) das amostras, poderão ser preditos com base nos dados gerados por RMN de baixa resolução e os resultados encontrados seriam comparados aos valores calculados com base na composição em ácidos graxos dos óleos obtida por cromatografia gasosa (CG), ou a valores obtidos experimentalmente.

Haja vista que os estudos realizados neste trabalho foram os primeiros a utilizarem as sequências de CWFP e CP-CWFP no grupo de RMN de baixo campo da UFES, eles se tornaram importantes para o desenvolvimento e compreensão destas técnicas em nosso laboratório. Sendo assim, pode-se ampliar o uso dessas sequências em novos experimentos, expandindo suas aplicações também em novas áreas, como a de petróleo, por exemplo, que é foco principal do NCPQ (Núcleo de Competências em Química do Petróleo). Entretanto, primeiramente, é interessante investigar as possíveis vantagens e desvantagens que as sequências de CWFP e CP-CWFP podem proporcionar em tal área de pesquisas.

Com relação à sequência de CP-CWFP, ainda é necessária sua programação no espectrômetro Maran. Portanto, a implementação da sequência no equipamento também poderia estimular a abertura de uma nova área de estudos no grupo, a do desenvolvimento e aplicação de novas sequências de pulsos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. MEHER, L. C.; SAGAR, D.; NAIK, S. N. Technical aspects of biodiesel production by transesterification – a review, *Renew. Sust. Energ. Rev.*, **10**, 255-258, 2004.
2. RAMADHAS, A. S.; JAYARAJ, S.; MURALEEDHARAN, C. Use of vegetable oils as I.C. engine fuels – a review, *Renew. Energ.*, **29**, 727-742, 2004.
3. SCHWAB, A. W.; BAGBY M. O.; FREEDMAN, B. Preparation and properties of diesel fuels from vegetables oils, *Fuel*, **66**, 1372-1378, 1987.
4. LIMA, J. R. O.; SILVA, R. B.; SILVA, C. C. M.; SANTOS, L. S. S.; SANTOS JR, J. R.; MOURA, E. M.; MOURA, C. V. R. Biodiesel de babaçu obtido por via etanólica. *Quim. Nova*, **30** (3), 600-603, 2007.
5. FERRARI, R. A.; OLIVEIRA, V. S.; SCABIO, A. Biodiesel de soja – taxa de conversão em ésteres etílicos, caracterização físico-química e consumo em gerador de energia, *Quim. Nova*, **28** (1), 19-23, 2005.
6. ALI, Y.; HANNA, M. A. Alternative diesel fuel from vegetable oils, *Bioresource Technol.*, **50**, 153-163, 1994.
7. MORETTO, E.; ALVES, R. F. Óleos e gorduras vegetais: processamento e análises, Florianópolis: Ed. da UFSC, 1986. 179 p.
8. VISENTAINER, J. V.; FRANCO, M. R. B. Ácidos graxos em óleos e gorduras: identificação e quantificação, São Paulo: Varela, 2006. 120 p.
9. KNOTHE, G.; KRAHL, J.; GERPEN, J. V.; RAMOS, L. P. Manual de Biodiesel, São Paulo: Edgard Blücher, 2006. 340 p.
10. ALTIN, R.; ÇETINKAYA, S; YÜCESU, H. S. The potential of using vegetable oil fuels as fuel for diesel engines, *Energ. Convers. Manage.*, **42**, 529-538, 2001.
11. RAKOUPoulos, C. D.; ANTONOPOULOS, K. A.; RAKOPOULOS, D. C.; HOUNTALAS, D. T.; GIAKOUMIS, E. G. Comparative performance and emissions study of a direct injection diesel engine using blends of diesel fuel with vegetable oils or bio-diesels of various origins, *Energ. Convers. Manage.*, **47**, 3272-3287, 2006.
12. COSTA, P. R.; ROSSI, L. F. S. Produção de biocombustível alternativo ao óleo diesel através da transesterificação de óleo de soja usado em frituras, *Quim. Nova*, **23** (4), 531-537, 2000.
13. DEMIRBAS, A. Relationships derived from physical properties of vegetable oil

- and biodiesel fuels, *Fuel*, **87**, 1743-1748, 2008.
14. TOMA, D. **Análise da qualidade de óleos vegetais em sementes intactas por RMN de baixa resolução**, Dissertação de Mestrado, Instituto de Química da Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009. 112 p.
 15. PRESTES, R. A.; COLNAGO, L. A.; FORATO, L. A.; VIZZOTTO, L.; NOVOTNY, E. H.; CARRILHO, E. A rapid and automated low resolution NMR method to analyze oil quality in intact oilseeds, *Anal. Chim. Acta*, **596**, 325-329, 2007.
 16. TONG, D.; HU, C.; JIANG, K.; LI, Y. Cetane number prediction of biodiesel from the composition of the fatty acid methyl esters, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **88**, 415-423, 2011.
 17. KNOTHE, G. Dependence of biodiesel fuel properties on the structure of fatty acid alkyl esters, *Fuel Process. Technol.*, **86**, 1059-1070, 2005.
 18. RAMÍREZ-VERDUZCO, L. F.; RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, J. E.; JARAMILLO-JACOB, A. R. Predicting cetane number, kinematic viscosity, density, and higher heating value of biodiesel from its fatty acid methyl ester composition, *Fuel*, **91**, 102-111, 2012.
 19. KNOTHE, G.; STEIDLEY, K. Kinematic viscosity of biodiesel fuel components and related compounds. Influence of compound structure and comparison to petrodiesel fuel components, *Fuel*, **84**, 1059-1065, 2005.
 20. ARAÚJO, J. M. A. Química de Alimentos Teoria e Prática. 4ª Ed. Viçosa: Ed. UFV, 2008. 596 p.
 21. GOPINATH, A.; PUHAN, S.; NAGARAJAN, G. Theoretical modeling of iodine value and saponification value of biodiesel fuels from their fatty acid composition, *Renew. Energ.*, **34**, 1806-1811, 2009.
 22. Resolução Nº 7 da Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis, de 19/03/2008, *Diário Oficial da União*, 20/03/2008.
 23. Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis: Biodiesel, Disponível em <http://www.anp.gov.br/biocombustiveis/biodiesel>. Acesso em 29 de janeiro de 2013.
 24. COLNAGO L. A.; ANDRADE, F. D.; MARCONCINI, L. V.; NETTO, A. M.; MORETTI, T. B. Desenvolvimento de técnicas de RMN ultra-rápidas para análises de sementes oleaginosas. In: III Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia de Biodiesel, 2009, Brasília – DF, Livro de Resumos. p. 173.

25. COLNAGO, L. A. Análise do Teor de Óleo em Sementes por RMN, São Carlos: Embrapa-CNPDIA, *Circular Técnica* (3), 1996, 14 p.
26. GODOY, I. J.; TEIXEIRA, J. P. F.; NAGAI, V.; RETTORI, C. Determinação do teor de óleo em sementes individuais de amendoim pelo método de ressonância magnética nuclear: estudo de variância e relação com o método soxhlet, *Trends Bragantia*, **45** (1), 161-169, 1986.
27. GAMBHIR, P. N. Applications of low-resolution pulsed NMR to the determination of oil and moisture in oilseeds, *Trends Food Sci. Technol.*, **3**, 191-196, 1992.
28. BALCI, M. Basic ^1H - and ^{13}C -NMR spectroscopy. 1ª Ed. Amsterdam: Elsevier, 2005. 427 p.
29. GIL, V. M. S.; GERALDES, C. F. G. C. Ressonância magnética nuclear: fundamentos, métodos e aplicações. 1ª Ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1987. 1023 p.
30. CLARIDGE, T. D. W. High-resolution NMR techniques in organic chemistry. 2ª Ed. Amsterdam: Elsevier, 2009. 383 p.
31. HAHN, E. L. Spin echoes, *Phys. Rev.*, **80** (4), 580-594, 1950.
32. CARR, H. Y.; PURCELL, E. M. Effects of diffusion on free precession in nuclear magnetic resonance experiments, *Phys. Rev.*, **94** (3), 630-638, 1954.
33. ANDRADE, F. D. **Desenvolvimento de sequências de pulso de eco de spin de baixa potência para RMN online**, Tese de Doutorado, Instituto de Química da Universidade de São Paulo, São Carlos, 2011. 78 p.
34. MEIBOOM, S.; GILL, D. Modified spin-echo method for measuring nuclear relaxation times, *Rev. Sci. Instrum.*, **29** (8), 688-691, 1958.
35. ANDRADE, F. D.; NETTO, A. M.; COLNAGO, L. A. Qualitative analysis by online nuclear magnetic resonance using Carr-Purcell-Meiboom-Gill sequence with low refocusing flip angles, *Talanta*, **84**, 84-88, 2011.
36. VENÂNCIO, T. **Novas aplicações da precessão livre em onda contínua em ressonância magnética nuclear de baixa e alta resolução**, Tese de Doutorado, Instituto de Química da Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006. 151 p.
37. AZEREDO, R. B. V.; COLNAGO, L. A.; SOUZA, A. A.; ENGELSBERG, M. Continuous wave free precession practical analytical tool for low-resolution nuclear magnetic resonance measurements, *Anal. Chim. Acta*, **478**, 313-320,

- 2003.
38. COLNAGO, L. A.; ENGELSBERG, M.; SOUZA, A. A.; BARBOSA, L. L. High-throughput, non-destructive determination of oil content in intact seeds by continuous wave-free precession NMR, *Anal. Chem.*, **79**, 1271-1274, 2007.
 39. ANDRADE, F. D.; COLNAGO, L. A. Uso da RMN com um sensor *online* em processos industriais, *Quim. Nova*, **35** (10), 2019-2024, 2012.
 40. SILVA, R. C. **Ressonância magnética nuclear de baixo campo em estudos de petróleo**, Dissertação de mestrado, Departamento de Química da Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2009. 87 p.
 41. NETTO, A. M. **Análise da influência dos parâmetros espectrais da RMN-CWFP em medidas quantitativas em fluxo**, Dissertação de mestrado, Instituto de Física da Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009. 112 p.
 42. MARCONCINI, L. V.; SANO, S. M.; COLNAGO, L. A. Determinação do teor de óleo em sementes de baru por RMN em baixa resolução, In: III Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia de Biodiesel, 2009, Brasília – DF, Livro de Resumos. p.189.
 43. FERREIRA, M. M. C.; ANTUNES, A. M.; MELGO, M. S.; VOLPE, P. L. O. Quimiometria I: calibração multivariada, um tutorial, *Quim. Nova*, **22** (5), 724-731, 1999.
 44. MOITA NETO, J. M.; MOITA, G. C. Uma introdução à análise exploratória de dados multivariados, *Quim. Nova*, **21** (4), 467-469, 1998.
 45. MALHOTRA, N. K. Pesquisa de marketing: uma orientação aplicada. 4ª Ed. Porto Alegre: Bookman, 2006. 720 p.
 46. BOUROCHE, J; SAPORTA, G. Análise de dados. 1ª Ed. Rio de Janeiro: Zahar, 1982. 116 p.
 47. MATOS, G. D.; PEREIRA FILHO, E. R.; POPPI, R.J.; ARRUDA, M. A. Z. Análise exploratória em química analítica com emprego de quimiometria: PCA e PCA de imagens, *Rev. Anal.*, **6**, 38-50, 2003.
 48. LYRA, W. S.; SILVA, E. C.; ARAÚJO, M. C. U.; FRAGOSO, W. D. Classificação periódica: um exemplo didático para ensinar análise de componentes principais, *Quim. Nova*, **33** (7), 1594-1597, 2010.
 49. ALLEN, C. A. W.; WATTS, K. C.; ACKMAN, R. G.; PEGG, M. J. Predicting the viscosity of biodiesel fuels from their fatty acid ester composition, *Fuel*, **78**, 1319-

- 1326, 1999.
50. SANTOS, R. B.; SOUZA, T. S.; LACERDA JR., V.; CASTRO, E. V. R. Estudo das propriedades físico-químicas do biodiesel obtido a partir do óleo da cutieira (*Joannesia princeps Vell.*), In: II Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia de Biodiesel, 2007, Brasília – DF. Livro de resumos.
 51. JORGE, N.; SOARES, B. B. P.; LUNARDI, V. M.; MALACRIDA, C. R. Alterações físico-químicas dos óleos de girassol, milho e soja em frituras, *Quim. Nova*, **2005**, **28** (6), 947-951, 2005.
 52. DIXIT, S.; KANAKRAJ, S.; REHMAN, A. Linseed oil as a potential resource for bio-diesel: a review, *Renew. Sust. Energ. Rev.*, **16**, 4415-4421, 2012.
 53. MARTÍN, C.; MOURE, A.; MARTÍN, G.; CARRILLO, E.; DOMÍNGUEZ, H.; PARAJO, J. C. Fractional characterisation of jatropha, neem, moringa, trisperma, castor, and candlenut seeds as potential feedstocks for biodiesel production in Cuba, *Biomass Bioenerg.*, **34**, 533-538, 2010.
 54. BRUM, M. C.; SANTOS, L. S.; SANTOS, R. B.; LACERDA JR., V.; GRECO, S. J.; CASTRO, E. V. R. Biodiesel da Munguba (*Pachira aquatica Aubl.*), Síntese e Avaliação da Presença de Ácidos Graxos Ciclopropenoídicos, In: 32º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Fortaleza – CE, 2009. Livro de resumos. TC-009.
 55. DOMINGOS, A. K.; SAAD, E. B.; WILHELM, H. M.; RAMOS, L. P. Optimization of the ethanolysis of *Raphanus sativus* (L. Var.) crude oil applying the response surface methodology, *Bioresource Technol.*, **99**, 1837-1845, 2008.
 56. CHEN, Y. H.; CHEN, J. H.; LUO, Y. M. Complementary biodiesel combination from tung and medium-chain fatty acid oils, *Renew. Energ.*, **44**, 305-310, 2012.
 57. TIWARI, P. N.; GAMBHIR, P. N.; RAJAN, T. S. Rapid and nondestructive determination of seed oil by pulsed nuclear magnetic resonance technique, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **51**, 104-109, 1974.
 58. CONSTANTINO, A. F.; LACERDA JR., V.; SANTOS, R. B.; GRECO, S. J.; NETO, A. C.; BARBOSA, L. L.; FREITAS, J. C. C.; CASTRO, E. V. R. Análise qualitativa da viscosidade cinemática de óleos vegetais com potencial para produção de biodiesel por RMN de baixo campo, In: 35º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Águas de Lindóia – SP, 2012. Livro de resumos. TEC-047.
 59. REFAAT, A. A. Correlation between the chemical structure of biodiesel and its

- physical properties. *Int. J. Environ. Sci. Technol.*, **6** (4), 677-694, 2009.
60. THOMAS, T. P.; BIRNEY, D. M.; AULD, D. L. Viscosity reduction of castor oil esters by the addition of diesel, safflower oil esters and additives, *Ind. Crop. Prod.*, **36**, 267-270, 2012.
61. WAZILEWSKI, W. T.; BARICCATTI, R. A.; MARTINS, G. I.; SECCO, D.; SOUZA, S. N. M.; ROSA, H. A.; CHAVES, L. I. Study of the methyl crambe (*Crambe abyssinica* Hochst) and soybean biodiesel oxidative stability, *Ind. Crop. Prod.*, **43**, 207-212, 2013.
62. KARMAKAR, A.; KARMAKAR, S.; MUKHERJEE, S. Properties of various plants and animals feedstocks for biodiesel production, *Bioresource Technol.*, **101**, 7201-7210, 2010.

ANEXOS

Anexo A

A seguir são apresentados os dados referentes à construção das curvas analíticas para o amendoim, bem como as curvas, suas equações lineares e os dados necessários para os cálculos dos processos de extração dos lipídeos das amostras de sementes.

Tabela A1. Dados referentes à construção das curvas analíticas para as sementes de amendoim.

Massa de óleo da amostra padrão (g)	Intensidade do sinal de RMN			
	Pulso Único (u. a.)	Spin-eco (u. a.)	CPMG (u. a.)	CWFP (u. a.)
4,829	$5,987 \cdot 10^2$	$5,906 \cdot 10^2$	$5,664 \cdot 10^2$	$7,25 \cdot 10^0$
9,902	$1,252 \cdot 10^3$	$1,208 \cdot 10^3$	$1,155 \cdot 10^3$	$1,34 \cdot 10^1$
15,022	$1,907 \cdot 10^3$	$1,816 \cdot 10^3$	$1,761 \cdot 10^3$	$2,09 \cdot 10^1$
20,132	$2,544 \cdot 10^3$	$2,428 \cdot 10^3$	$2,344 \cdot 10^3$	$2,96 \cdot 10^1$
25,272	$3,172 \cdot 10^3$	$3,033 \cdot 10^3$	$2,937 \cdot 10^3$	$3,74 \cdot 10^1$
30,052	$3,792 \cdot 10^3$	$3,589 \cdot 10^3$	$3,483 \cdot 10^3$	$4,61 \cdot 10^1$

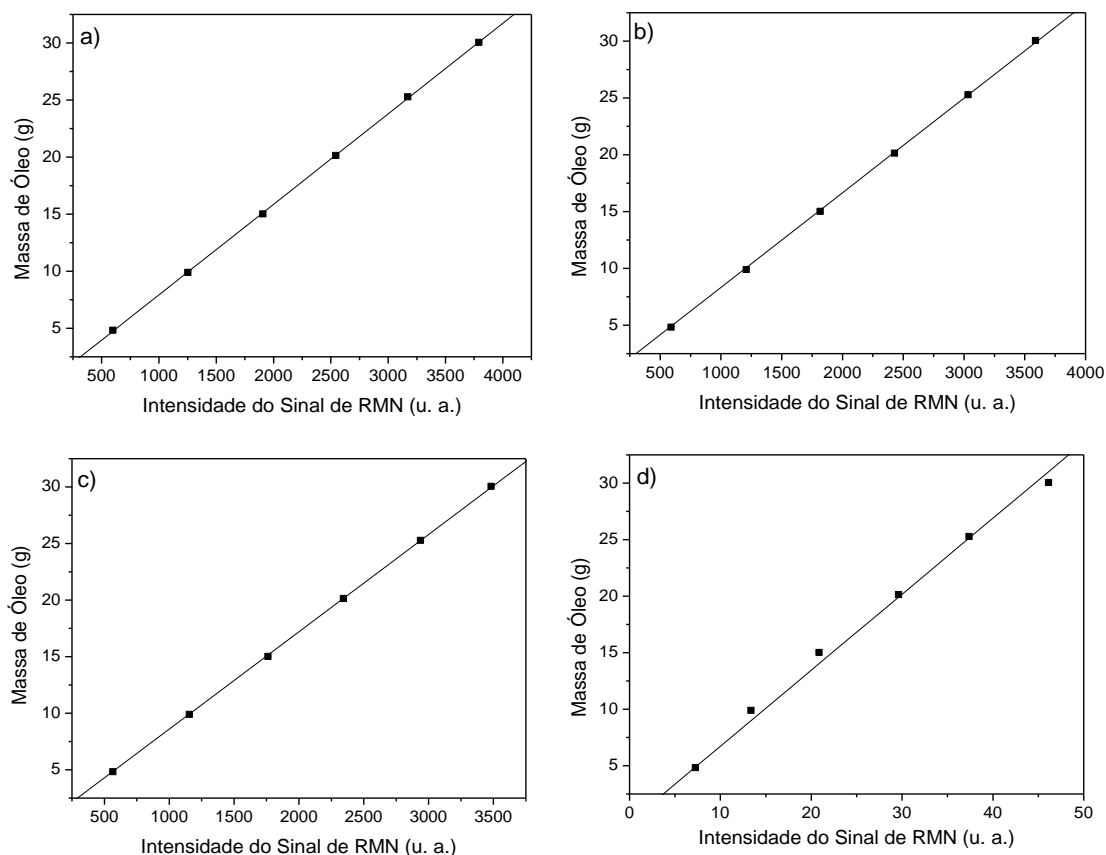


Figura A1. Curvas analíticas para as sementes de amendoim de acordo com a sequência de pulsos aplicada: a) pulso único; b) spin-eco; c) CPMG e d) CWFP.

$$T_{\text{amendoim_pulsoúnico}} (g) = 0,00793.\Lambda \quad (A1)$$

$$T_{\text{amendoim_spin-eco}} (g) = 0,00833.\Lambda \quad (A2)$$

$$T_{\text{amendoim_CPMG}} (g) = 0,00860.\Lambda \quad (A3)$$

$$T_{\text{amendoim_CWFP}} (g) = 0,67231.\Lambda \quad (A4)$$

Tabela A2. Dados relacionados aos cálculos dos rendimentos dos processos de extração do óleo das amostras de sementes de amendoim pelo método clássico (m/m) e por RMN de ^1H .

Amostra	Massa da amostra (g)	Massa de óleo extraída (g)	intensidade do sinal de RMN antes da extração (Λ_i)				Intensidade do sinal de RMN após a extração (Λ_f)			
			Pulso Único (u. a.)	Spin-eco (u. a.)	CPMG (u. a.)	CWFP (u. a.)	Pulso Único (u. a.)	Spin-eco (u. a.)	CPMG (u. a.)	CWFP (u. a.)
1	30,318	11,288	$1,574.10^3$	$1,522.10^3$	$1,397.10^3$	$1,44.10^1$	$3,514.10^2$	$2,793.10^2$	$1,935.10^2$	$4,75.10^0$
2	30,189	10,682	$1,556.10^3$	$1,502.10^3$	$1,387.10^3$	$1,47.10^1$	$3,696.10^2$	$3,126.10^2$	$2,215.10^2$	$4,38.10^0$
3	30,000	10,697	$1,588.10^3$	$1,499.10^3$	$1,398.10^3$	$1,62.10^1$	$4,430.10^2$	$3,824.10^2$	$2,885.10^2$	$4,88.10^0$

Anexo B

A seguir são apresentados os dados referentes à construção das curvas analíticas para o cutieira, bem como as curvas, suas equações lineares e os dados necessários para os cálculos dos processos de extração dos lipídeos das amostras de sementes.

Tabela B1. Dados referentes à construção das curvas analíticas para as sementes de cutieira.

Intensidade do sinal de RMN				
Massa de óleo da amostra padrão (g)	Pulso Único (u. a.)	Spin-eco (u. a.)	CPMG (u. a.)	CWFP (u. a.)
4,913	$5,380 \cdot 10^2$	$5,206 \cdot 10^2$	$5,106 \cdot 10^2$	$6,69 \cdot 10^0$
9,911	$1,116 \cdot 10^3$	$1,077 \cdot 10^3$	$1,033 \cdot 10^3$	$1,08 \cdot 10^1$
15,031	$1,677 \cdot 10^3$	$1,641 \cdot 10^3$	$1,571 \cdot 10^3$	$1,68 \cdot 10^1$
19,891	$2,214 \cdot 10^3$	$2,151 \cdot 10^3$	$2,074 \cdot 10^3$	$1,96 \cdot 10^1$
24,831	$2,761 \cdot 10^3$	$2,701 \cdot 10^3$	$2,583 \cdot 10^3$	$2,45 \cdot 10^1$
29,651	$3,301 \cdot 10^3$	$3,213 \cdot 10^3$	$3,084 \cdot 10^3$	$2,81 \cdot 10^1$

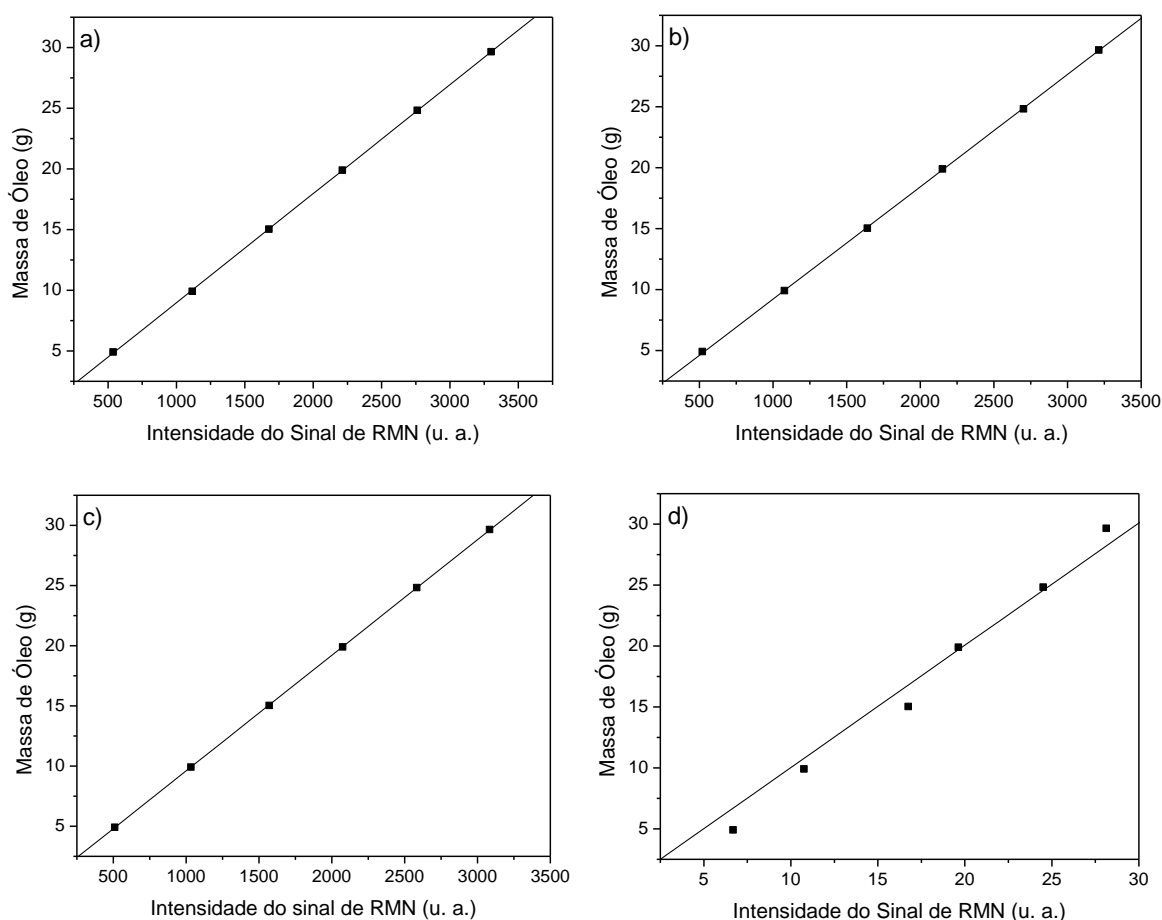


Figura B1. Curvas analíticas para as sementes de cutieira de acordo com a sequência de pulsos aplicada: a) pulso único; b) spin-eco; c) CPMG e d) CWFP.

$$T_{\text{cutieira_pulsoúnico}} (g) = 0,00898.\Lambda \quad (\text{B1})$$

$$T_{\text{cutieira_spin-eco}} (g) = 0,00922.\Lambda \quad (\text{B2})$$

$$T_{\text{cutieira_CPMG}} (g) = 0,00960.\Lambda \quad (\text{B3})$$

$$T_{\text{cutieira_CWFP}} (g) = 1,00296.\Lambda \quad (\text{B4})$$

Tabela B2. Dados relacionados aos cálculos dos rendimentos dos processos de extração do óleo das amostras de sementes de cutieira pelo método clássico (m/m) e por RMN de ^1H .

Amostra	Massa da amostra (g)	Massa de óleo extraída (g)	intensidade do sinal de RMN antes da extração (Λ_i)				Intensidade do sinal de RMN após a extração (Λ_f)			
			Pulso Único (u. a.)	Spin-eco (u. a.)	CPMG (u. a.)	CWFP (u. a.)	Pulso Único (u. a.)	Spin-eco (u. a.)	CPMG (u. a.)	CWFP (u. a.)
1	30,115	13,136	$1,800.10^3$	$1,735.10^3$	$1,647.10^3$	$1,55.10^1$	$3,339.10^2$	$2,77.10^2$	$2,195.10^2$	$3,25.10^0$
2	30,332	14,070	$1,806.10^3$	$1,726.10^3$	$1,652.10^3$	$1,66.10^1$	$2,678.10^2$	$2,39.10^2$	$1,825.10^2$	$2,81.10^0$
3	30,101	13,694	$1,797.10^3$	$1,723.10^3$	$1,646.10^3$	$1,58.10^1$	$3,134.10^2$	$2,81.10^2$	$2,307.10^2$	$3,31.10^0$

Anexo C

A seguir são apresentados os dados referentes à construção das curvas analíticas para o girassol, bem como as curvas, suas equações lineares e os dados necessários para os cálculos dos processos de extração dos lipídeos das amostras de sementes.

Tabela C1. Dados referentes à construção das curvas analíticas para as sementes de girassol.

Massa de óleo da amostra padrão (g)	Intensidade do sinal de RMN			
	Pulso Único (u. a.)	Spin-eco (u. a.)	CPMG (u. a.)	CWFP (u. a.)
5,043	$6,274 \cdot 10^2$	$6,049 \cdot 10^2$	$5,739 \cdot 10^2$	$7,44 \cdot 10^0$
10,200	$1,277 \cdot 10^3$	$1,214 \cdot 10^3$	$1,161 \cdot 10^3$	$1,46 \cdot 10^1$
15,270	$1,893 \cdot 10^3$	$1,821 \cdot 10^3$	$1,747 \cdot 10^3$	$2,32 \cdot 10^1$
20,460	$2,526 \cdot 10^3$	$2,427 \cdot 10^3$	$2,326 \cdot 10^3$	$2,95 \cdot 10^1$
25,730	$3,039 \cdot 10^3$	$2,941 \cdot 10^3$	$2,813 \cdot 10^3$	$3,76 \cdot 10^1$
30,130	$3,716 \cdot 10^3$	$3,584 \cdot 10^3$	$3,417 \cdot 10^3$	$4,46 \cdot 10^1$

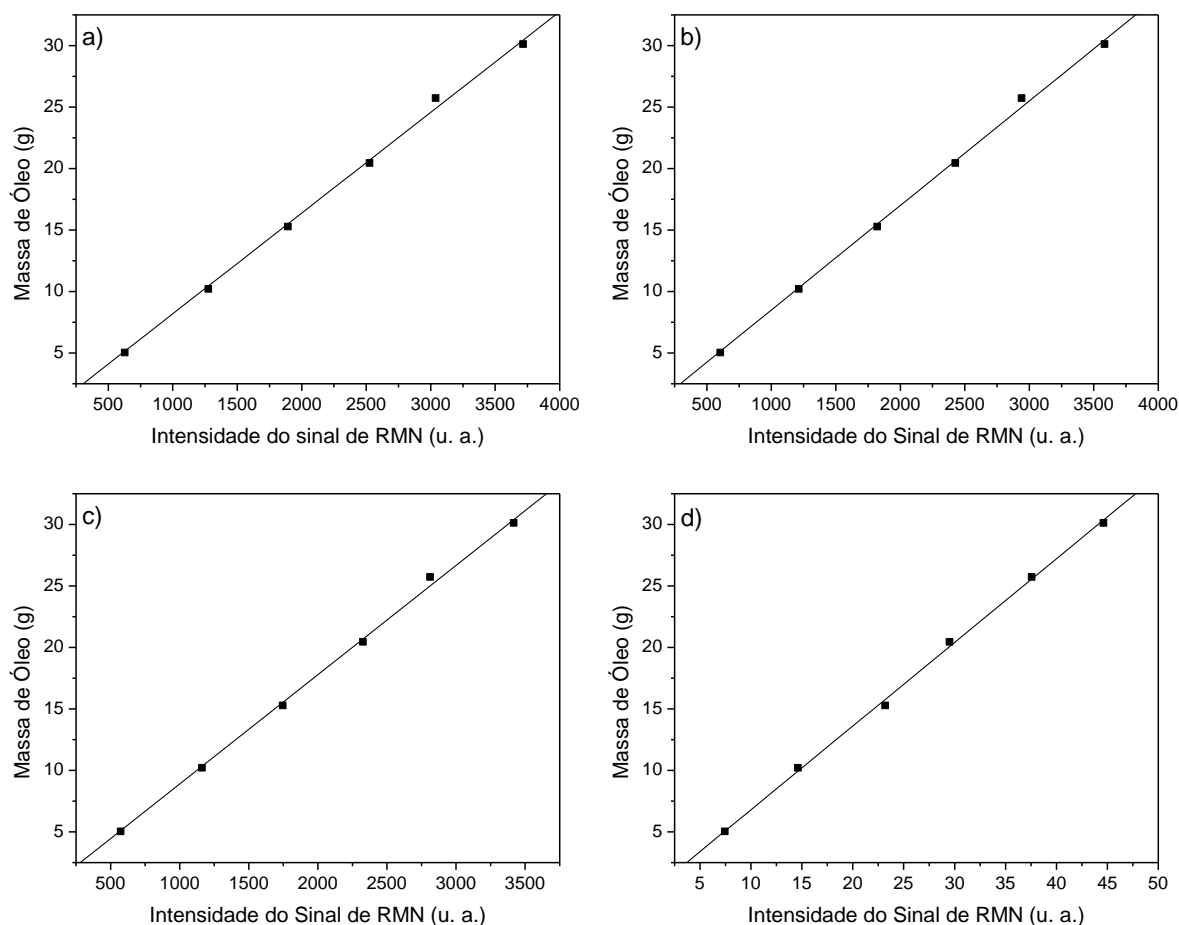


Figura C1. Curvas analíticas para as sementes de girassol de acordo com a sequência de pulsos aplicada: a) pulso único; b) spin-eco; c) CPMG e d) CWFP.

$$T_{\text{girassol_pulsoúnico}} (g) = 0,00819.\Lambda \quad (C1)$$

$$T_{\text{girassol_spin-eco}} (g) = 0,00850.\Lambda \quad (C2)$$

$$T_{\text{girassol_CPMG}} (g) = 0,00889.\Lambda \quad (C3)$$

$$T_{\text{girassol_CWFP}} (g) = 0,68026.\Lambda \quad (C4)$$

Tabela C2. Dados relacionados aos cálculos dos rendimentos dos processos de extração do óleo das amostras de sementes de girassol pelo método clássico (m/m) e por RMN de ^1H .

Amostra	Massa da amostra (g)	Massa de óleo extraída (g)	intensidade do sinal de RMN antes da extração (Λ_i)				Intensidade do sinal de RMN após a extração (Λ_f)			
			Pulso Único (u. a.)	Spin-eco (u. a.)	CPMG (u. a.)	CWFP (u. a.)	Pulso Único (u. a.)	Spin-eco (u. a.)	CPMG (u. a.)	CWFP (u. a.)
1	30,014	12,768	$2,228.10^3$	$2,151.10^3$	$1,992.10^3$	$2,05.10^1$	$8,105.10^2$	$7,384.10^2$	$6,310.10^2$	$7,56.10^0$
2	30,411	12,328	$2,241.10^3$	$2,178.10^3$	$2,023.10^3$	$2,83.10^1$	$9,326.10^2$	$8,571.10^2$	$7,611.10^2$	$1,10.10^0$
3	30,185	13,366	$2,196.10^3$	$2,124.10^3$	$1,976.10^3$	$2,71.10^1$	$7,221.10^2$	$6,703.10^2$	$5,635.10^2$	$8,00.10^0$

Anexo D

A seguir são apresentados os dados referentes à construção das curvas analíticas para o nabo forrageiro, bem como as curvas, suas equações lineares e os dados necessários para os cálculos dos processos de extração dos lipídeos das amostras de sementes.

Tabela D1. Dados referentes à construção das curvas analíticas para as sementes de nabo forrageiro.

Massa de óleo da amostra padrão (g)	Intensidade do sinal de RMN			
	Pulso Único (u. a.)	Spin-eco (u. a.)	CPMG (u. a.)	CWFP (u. a.)
5,125	$6,538 \cdot 10^2$	$6,284 \cdot 10^2$	$6,000 \cdot 10^2$	$6,88 \cdot 10^0$
10,217	$1,307 \cdot 10^3$	$1,246 \cdot 10^3$	$1,190 \cdot 10^3$	$1,31 \cdot 10^1$
14,767	$1,885 \cdot 10^3$	$1,806 \cdot 10^3$	$1,730 \cdot 10^3$	$1,81 \cdot 10^1$
19,767	$2,508 \cdot 10^3$	$2,417 \cdot 10^3$	$2,300 \cdot 10^3$	$2,51 \cdot 10^1$
24,347	$3,087 \cdot 10^3$	$2,974 \cdot 10^3$	$2,835 \cdot 10^3$	$3,09 \cdot 10^1$

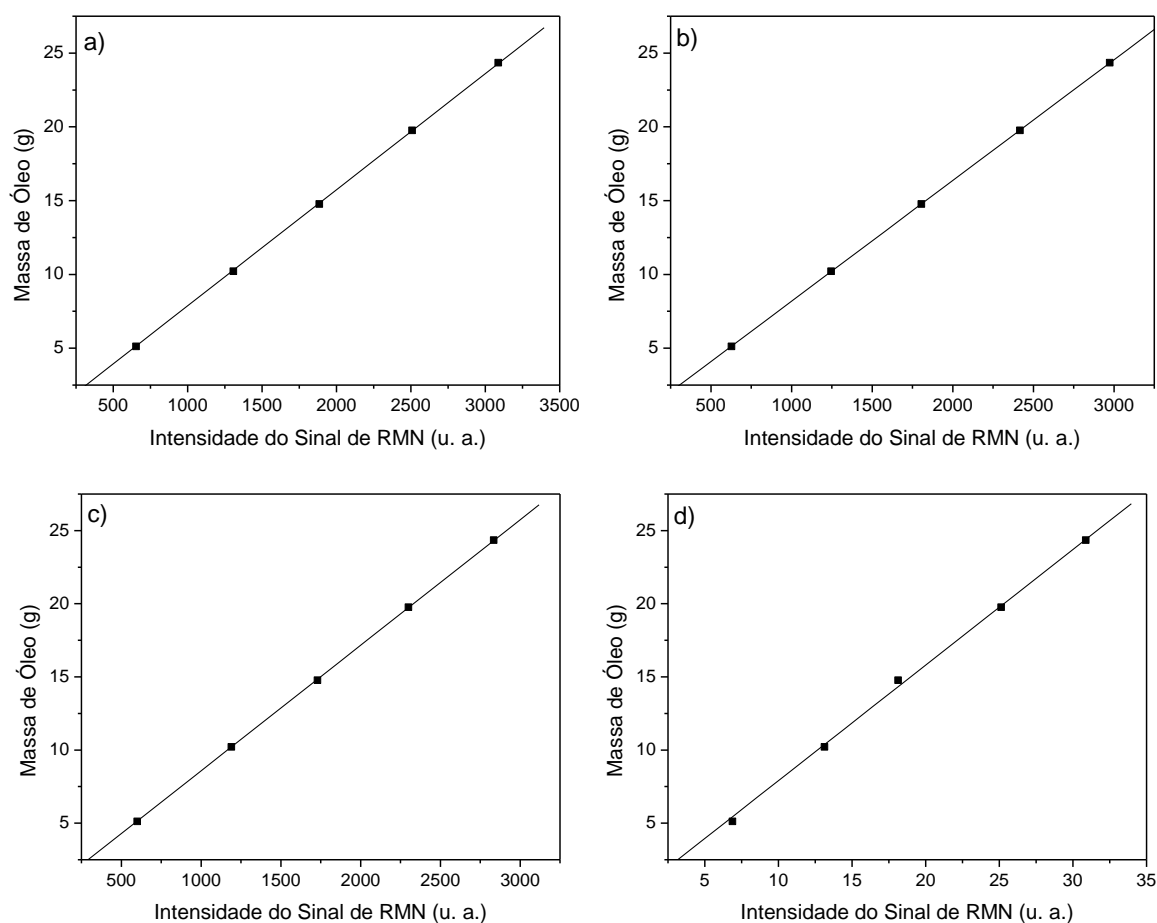


Figura D1. Curvas analíticas para as sementes de nabo forrageiro de acordo com a sequência de pulsos aplicada: a) pulso único; b) spin-eco; c) CPMG e d) CWFP.

$$T_{\text{nabo_pulsoúnico}} (g) = 0,00787.\Lambda \quad (D1)$$

$$T_{\text{nabo_spin-eco}} (g) = 0,00818.\Lambda \quad (D2)$$

$$T_{\text{nabo_CPMG}} (g) = 0,00858.\Lambda \quad (D3)$$

$$T_{\text{nabo_CWFP}} (g) = 0,79028.\Lambda \quad (D4)$$

Tabela D2. Dados relacionados aos cálculos dos rendimentos dos processos de extração do óleo das amostras de sementes de nabo forrageiro pelo método clássico (m/m) e por RMN de ^1H .

Amostra	Massa da amostra (g)	Massa de óleo extraída (g)	intensidade do sinal de RMN antes da extração (Λ_i)				Intensidade do sinal de RMN após a extração (Λ_f)			
			Pulso Único (u. a.)	Spin-eco (u. a.)	CPMG (u. a.)	CWFP (u. a.)	Pulso Único (u. a.)	Spin-eco (u. a.)	CPMG (u. a.)	CWFP (u. a.)
1	30,580	8,432	$1,480.10^3$	$1,391.10^3$	$1,281.10^3$	$1,36.10^1$	$7,009.10^2$	$5,988.10^2$	$5,025.10^2$	$6,88.10^0$
2	30,247	8,343	$1,463.10^3$	$1,365.10^3$	$1,263.10^3$	$1,46.10^1$	$7,053.10^2$	$6,351.10^2$	$5,215.10^2$	$6,69.10^0$
3	30,324	9,294	$1,467.10^3$	$1,381.10^3$	$1,281.10^3$	$1,72.10^1$	$5,583.10^2$	$4,829.10^2$	$3,893.10^2$	$5,44.10^0$

Anexo E

A seguir são apresentados os dados referentes à construção das curvas analíticas para o pinhão manso, bem como as curvas, suas equações lineares e os dados necessários para os cálculos dos processos de extração dos lipídeos das amostras de sementes.

Tabela E1. Dados referentes à construção das curvas analíticas para as sementes de pinhão manso.

Massa de óleo da amostra padrão (g)	Intensidade do sinal de RMN			
	Pulso Único (u. a.)	Spin-eco (u. a.)	CPMG (u. a.)	CWFP (u. a.)
5,180	$6,632 \cdot 10^2$	$6,476 \cdot 10^2$	$5,937 \cdot 10^2$	$7,25 \cdot 10^1$
10,370	$1,314 \cdot 10^3$	$1,285 \cdot 10^3$	$1,172 \cdot 10^3$	$1,29 \cdot 10^1$
15,250	$1,943 \cdot 10^3$	$1,896 \cdot 10^3$	$1,746 \cdot 10^3$	$2,22 \cdot 10^1$
20,250	$2,575 \cdot 10^3$	$2,482 \cdot 10^3$	$2,310 \cdot 10^3$	$2,87 \cdot 10^1$
25,260	$3,217 \cdot 10^3$	$3,093 \cdot 10^3$	$2,872 \cdot 10^3$	$3,86 \cdot 10^1$
30,240	$3,837 \cdot 10^3$	$3,683 \cdot 10^3$	$3,458 \cdot 10^3$	$4,76 \cdot 10^1$

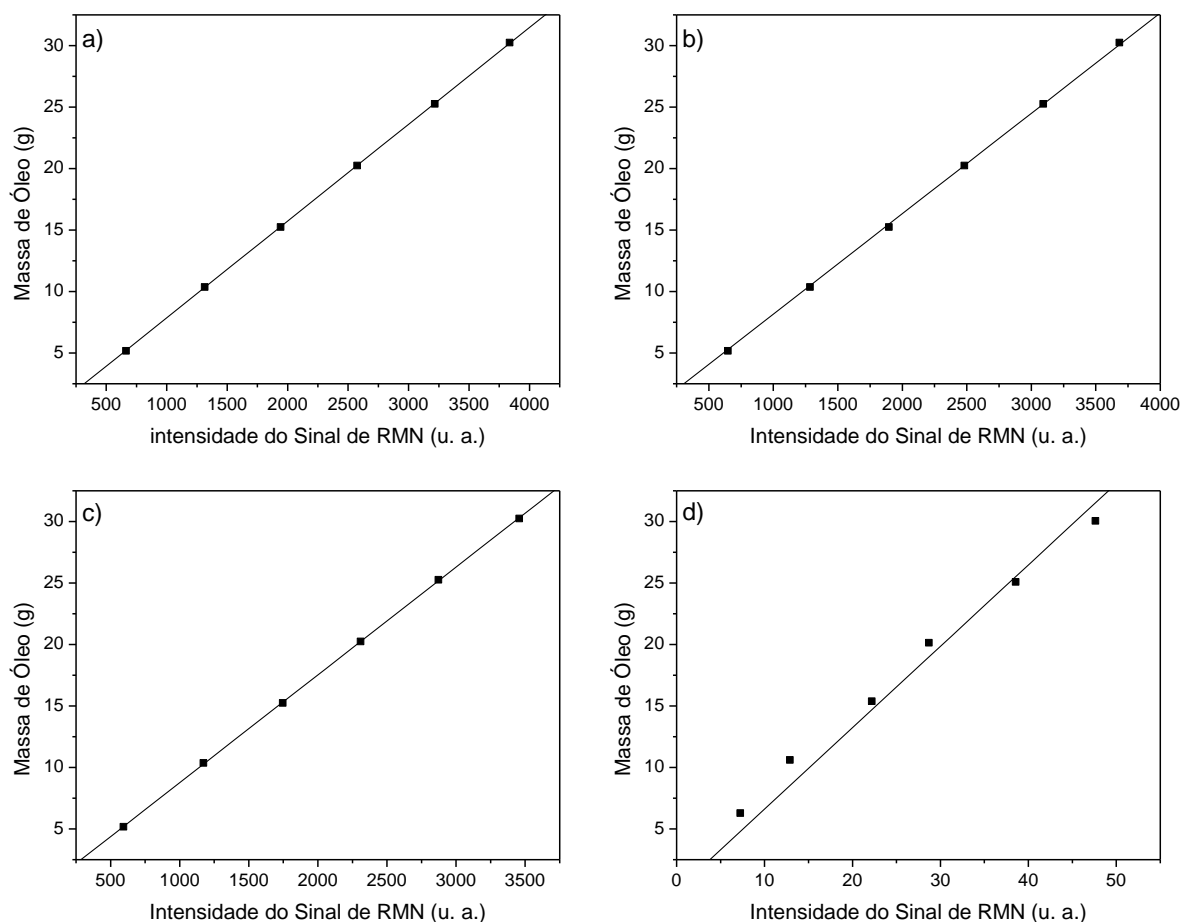


Figura E1. Curvas analíticas para as sementes de pinhão manso de acordo com a sequência de pulsos aplicada: a) pulso único; b) spin-eco; c) CPMG e d) CWFP.

$$T_{\text{pinhão_pulsoúnico}} (g) = 0,00787.\Lambda \quad (E1)$$

$$T_{\text{pinhão_spin-eco}} (g) = 0,00816.\Lambda \quad (E2)$$

$$T_{\text{pinhão_CPMG}} (g) = 0,00877.\Lambda \quad (E3)$$

$$T_{\text{pinhão_CWFP}} (g) = 0,66161.\Lambda \quad (E4)$$

Tabela E2. Dados relacionados aos cálculos dos rendimentos dos processos de extração do óleo das amostras de sementes de pinhão manso pelo método clássico (m/m) e por RMN de ^1H .

Amostra	Massa da amostra (g)	Massa de óleo extraída (g)	intensidade do sinal de RMN antes da extração (Λ_i)				Intensidade do sinal de RMN após a extração (Λ_f)			
			Pulso Único (u. a.)	Spin-eco (u. a.)	CPMG (u. a.)	CWFP (u. a.)	Pulso Único (u. a.)	Spin-eco (u. a.)	CPMG (u. a.)	CWFP (u. a.)
1	25,227	13,080	$1,655.10^3$	$1,596.10^3$	$1,504.10^3$	$1,54.10^1$	$2,700.10^2$	$2,124.10^2$	$1,269.10^2$	$4,06.10^0$
2	25,393	14,087	$1,683.10^3$	$1,607.10^3$	$1,512.10^3$	$1,63.10^1$	$2,230.10^2$	$1,940.10^2$	$9,479.10^1$	$3,13.10^0$
3	25,616	13,763	$1,685.10^3$	$1,642.10^3$	$1,532.10^3$	$1,76.10^1$	$2,289.10^2$	$1,722.10^2$	$9,319.10^1$	$3,88.10^0$

